

**IMMUNSUPPRESSION MIT CICLOSPORIN A
BEI XENOGENER NIERENTRANSPLANTATION
IM VERSUCHSMODELL FUCHS - HUND**

DIETER BÖHM

1986

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung, Klinikum
Großhadern der Universität München

VORSTAND: Prof.Dr.med.Dr.h.c. W. Brendel

IMMUNSUPPRESSION MIT CICLOSPORIN A BEI XENOGENER
NIERENTRANSPLANTATION IM VERSUCHSMODELL FUCHS-HUND

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
DIETER BÖHM

aus

München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter :

Prof. Dr. med.

Dr. med. vet. C. Hammer

Mitberichterstatter :

1. Prof. Dr. med.

Dr. h. c. W. Brendel

2. Prof. Dr. med. H. Denecke

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter :

Dr. med. vet. F. Krombach

Dekan :

Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 22.01.1987

MEINEN ELTERN

**IMMUNSUPPRESSION MIT CICLOSPORIN A BEI XENOGENER
NIERENTRANSPLANTATION IM VERSUCHSMODELL FUCHS-HUND**

Seite

1.	EINLEITUNG	1
1.1	Xenogene Organtransplantationen	
1.2	Ziel der Arbeit	2
2.	MATERIAL UND METHODEN	4
2.1	Versuchstiere	4
2.2	Versuchsablauf	4
2.3	Präoperative Behandlung	5
2.4	Anästhesie	6
2.5	Transplantation	7
2.5.1	Nierenexplantation	7
2.5.2	Nierenimplantation	8
2.6.	Postoperative Behandlung	8
2.7	Immunsuppression	9
2.7.1	Applikation von Ciclosporin A und Methyl- prednisolon	9
2.7.2	Dosierung in den verschiedenen Gruppen	9
2.7.3	Ciclosporin A-Serum-Spiegel	10
2.8	Klinische Parameter	10
2.8.1	Hämatologie	10
2.8.2	Harnstoff und Kreatinin	10
2.9	Immunologisches Monitoring	11
2.9.1	Feinnadelbiopsie und Aspirationszytologie	11
2.9.2	Morphologische Differenzierung	12
2.9.3	Corrected Increment	15
2.9.4	Mononukleäres Konzentrat	17
2.9.5	IgG-positive Zellen	17
2.9.6	Chemilumineszenz	18
2.10	Pathologie	21
2.11	Statistik	21

	Seite
3. ERGEBNISSE	22
3.1 Überlebenszeit der Empfänger	22
3.2 Postoperative Komplikationen	26
3.3 Verlauf Kreatininserumspiegel	28
3.4 Feinnadelaspirationszytologie	28
3.4.1 Corrected Increment	28
3.4.2 Lymphozyten und Monozyten	31
3.5 Vergleich zwischen Simultanbiopsien	34
3.6 Leukozytenpopulationen im peripheren Blut	35
3.6.1 Gesamtleukozyten	35
3.6.2 Gesamtlmphozyten	35
3.6.3 Mononukleäres Konzentrat	38
3.6.4 IgG positive Zellen	38
3.7. Chemilumineszenz	38
3.7.1 Vollblut	38
3.7.2 Separierte Granulozyten	38
3.8 Ausgewählte Einzelverläufe	40
3.9 Ciclosporin A-Serumspiegel	40
3.10 Pathologie	40
4. DISKUSSION	48
4.1 Historischer Überblick	48
4.2 Zu Material und Methoden	51
4.2.1 Versuchsmodell Fuchs-Hund	51
4.2.2 Feinnadelaspirationszytologie	54
4.2.3 IgG-positive Zellen	55
4.2.4 Aktivierte Zellen im mononukleären Konzentrat	55

Seite

4.2.5	Chemilumineszenz	56
4.3	Überlebenszeiten im Vergleich	58
4.4	Zellfluktuationen im Vergleich	59
4.4.1	Zellfluktuationen im Transplantat	59
4.4.2	Zellfluktuationen im peripheren Blut	62
4.4.3	Mononukleäres Konzentrat	62
4.4.4	IgG-positive Zellen	63
4.5	Chemilumineszenz und Abstoßung	64
4.6	CSA-Wirkung und Abstoßung	65

5.	ZUSAMMENFASSUNG	73
----	------------------------	----

6.	TABELLENANHANG	75
----	-----------------------	----

7.	LITERATURVERZEICHNIS	95
----	-----------------------------	----

ANHANG

Abkürzungen im Text

ALG	Anti Lymphozyten Globulin
aLy	aktivierter Lymphozyt
AMS	Anti Makrophagen Serum
AR	Abstoßungsreaktion
Baso	basophiler Granulozyt
C.I.	corrected Increment
CL	Chemilumineszenz
CSA	Ciclosporin A
d	Tag
DLA	Dog Lymphocyte Antigen
DMSO	Dimethylsulfoxid
Ec	Endothelzelle
Eos	eosinophiler Granulozyt
FNAC	Feinnadel-Aspirations-Zytologie
h	Stunde
HD	Hund
HLA	Human Leucoyte Antigen
HXAR	hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion
iE	internationale Einheit
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Lb	Lymphoblast
LGL	Large Granular Lymphocyte
LPS	Lipopolysaccharid
Lsg	Lösung
Ly	Lymphozyt
M	Molar
min	Minute
MP	Methylprednisolon

mg	Milligramm
ug	Mikrogramm
ml	Milliliter
ul	Mikroliter
MNK	mononukleäres Konzentrat
MO	Monozyt
MO	Makrophage
n	Anzahl
Neu	neutrophiler Granulozyt
OP	Operation
p	Signifikanzwert
PB	peripheres Blut
Pb	Plasmablast
Pc	Plasmazelle
PNAK	präformierte natürliche Antikörper
SD	Standardabweichung
Seg	segmentkerniger neutrophiler Granulozyt
Tc	Tubuluszelle
Upm	Umdrehungen pro Minute
Vol%	Volumenprozent
ZIM	zytoimmunologisches Monitoring

EINLEITUNG

1.1 XENOGENE ORGANTRANSPLANTATION

Die allogene Transplantation von Organen ist heute ein medizinisch anerkanntes und erfolgversprechendes Verfahren. Trotz weitreichender Aufklärung in der Bevölkerung herrscht aber auf der Spenderseite noch immer ein großes Defizit (126). Künstlicher Organersatz ist zwar teilweise möglich (Hämodialyse), ist aber mit großen Belastungen einerseits für den Patienten und auch finanzieller Art verbunden (124). Auch die Probleme des Kunstherzens scheinen im Dauereinsatz noch nicht gelöst zu sein, wenn überhaupt möglich (161). Hier scheint die xenogene Organübertragung, also die Transplantation tierischer Organe über die Speziesbarriere hinweg einen möglichen Ausweg zu bieten (89, 91, 166). Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts begann die Geschichte der Xenotransplantation; man kann sogar sagen, die Geschichte der Organtransplantation überhaupt begann mit der Übertragung tierischer Gewebe. Die frühen, zwangsläufigen Mißerfolge wurden erst nach Entdeckung der Histokompatibilitätsantigene und der immunologischen Grundlagen transparent (110). Nachdem man potente Immunsuppressiva zur Unterdrückung der Abstoßungsreaktion in der Hand hatte, stellten sich erste Erfolge ein (138, 156). Doch die Überwindung der körpereigenen Abwehr, die sich bei weiterer Erforschung als kompliziertes Netzwerk zellulärer und humoraler Faktoren herausgestellt hat, ist bis heute nicht restlos geklärt. Insbesondere bei xenogenen Übertragungen, bei denen stärkere, genetisch determinierte, immunologische Barrieren zu überwinden sind, ist trotz einzelner Erfolge die dauerhafte Annahme speziesfremder Organe nicht gelungen (7, 9, 12, 35, 69, 89, 91, 103, 138, 156). Häufig wird in diesen Fällen das

wohlbalancierte Gleichgewicht des Immunsystems so massiv auf die Seite der Suppression verschoben, daß die Organempfänger nicht an einer Abstoßung, sondern an einer Sepsis sterben (130).

Seit der Entdeckung der immunsuppressiven Wirkung des Ciclosporin A 1972 durch Borel (19, 20, 21), besitzt man ein äußerst potentes Medikament, das in seiner Selektivität auf T-Helfer_Zellen ein Novum darstellt (168, 169, 171). Nach großen Erfolgen im allogenen Bereich begann man auch die Wirkung im xenogenen Bereich zu erforschen (53, 54, 78, 90, 161). Die bisherigen Ergebnisse lassen jedoch keine eindeutigen Schlüsse zu.

1.2. ZIEL DER ARBEIT

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob sich durch CSA allein oder in Kombination mit Kortison die Überlebenszeit xenogener Nierentransplantate verlängern läßt. Es wurde dazu das mit herkömmlichen Immunsuppressiva (ALG, AMS) bereits gut untersuchte Modell Fuchs-Hund gewählt (128, 139, 148). Das Modell bietet den weiteren Vorteil, daß die genetische Disparität weitgehend mit dem System Schimpanse-Mensch übereinstimmt und somit Rückschlüsse auf die klinische Situation erlaubt (63).

Desweiteren sollten durch die von der finischen Gruppe um Pekka Häyry (56, 57, 58) entwickelte Methode der Feinnadel-aspirationszytologie zelluläre Veränderungen im Transplantat erfaßt werden. Mit dieser risikoarmen Methode können zytologische Veränderungen erfaßt werden, die eine zelluläre Abstoßungsreaktion charakterisieren und mit der histologischen Diagnose sehr gut korrelieren (98). Durch simultane Biopsien an den mittels "en-bloc-Technik" gleichzeitig transplantierten Nieren konnte zusätzlich überprüft werden, ob diese Veränderungen zeitlich und quantitativ in gleicher Ausprägung erfolgen.

Weitere immunologische Tests, wie die Fluoreszenzmarkierung IgG positiver Zellen und die Beurteilung aktivierter Zellformen im peripheren Blut sollten zusätzlich Aufschlüsse über die Abstoßungsreaktion geben (41, 42, 43). Als weitere Methode stand die Phagozytose-assoziierte Chemilumineszenz zur Verfügung, mit der die metabolische Veränderung phagozytisch aktiver Zellen erfaßt werden kann (1, 2, 3, 4, 40, 44, 45, 163). Durch die Erzeugung mikrobizider, reaktiver Sauerstoffspezies ("respiratory burst") bei Membrankontakten senden diese Zellen Lichtquanten aus, die in Form der luminolverstärkten Chemilumineszenz gemessen werden können. Damit steht ein Meßverfahren für den Aktivitätszustand von Phagozyten zur Verfügung, deren Rolle bei Entzündungsvorgängen und Transplantatabstoßungen unbestritten, wenn auch noch nicht eindeutig geklärt ist (71, 143, 144, 149).

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 VERSUCHSTIERE:

Als Empfänger dienten 16 Mischlingshunde mit einem Körpergewicht zwischen 10-15 kg. Die Auswahl der Hunde bezüglich ihrer Rassenanteile erfolgte rein zufällig. Sämtliche Hunde waren gegen Leptospirose, Staupe, und Hundehepatitis geimpft (Candur SHL, i.m., Staupe-Hepatitis-Leptospirose-Vaccine für Hunde, Behringwerke AG, Marburg/Lahn) und entwurmt worden (Telmin KH Janssen, Breitband-Antihelminthikum für Hunde, Janssen Pharmaceutica GmbH, Düsseldorf).

Als Spender standen 16 europäische Rotfüchse (*vulpes vulpes*) mit einem Körpergewicht von 5-7 kg zur Verfügung.

2.2 VERSUCHSABLAUF:

Zur Frage der Überlebenszeit und der Transplantatreaktion unter Ciclosporin A (CSA) Therapie wurde das mit herkömmlichen Immunsuppressiva (Antilymphozytenglobulin, Antimakrophagenserum) und ohne Immunsuppression (Kontrolle) bereits untersuchte Modell Fuchs-Hund gewählt (128, 139, 148).

Den jeweilig beidseitig nephrektomierten Empfängertieren wurden beide Fuchsnieren mit "en-bloc-Technik" übertragen. Das heißt die Fuchsnieren wurden paarweise mit zugehörigem Aorten- und v. cava Segment entnommen und mit den Iliacalgefäßen des Empfängers anastomosiert.

Im Versuchsverlauf ergab sich die Bildung von zwei Empfängergruppen mit unterschiedlichen Therapieschemata. Die erste Gruppe wurde mit einer CSA-Monotherapie behandelt, wobei ein Teil der Tiere mit einer niedrigen Dosierung (CSA+), wie im allogenen System üblich, der andere Teil mit einer hohen CSA-Dosis (CSA++) therapiert wurde. Um die Effizienz der immunsuppressiven Therapie weiter zu erhöhen,

erhielt eine zweite Gruppe zusätzlich Methylprednisolon (CSA+MP).

Bei dem begrenzten Angebot an Spendertieren, das sich auch aus dem neu belebten Tierschutzgedanken ergibt, war es nicht möglich die einzelnen Gruppen bis zu statistisch befriedigenden Zahlen aufzufüllen. Das Ziel war vielmehr eine Optimierung der Überlebenszeit unter CSA-Therapie in diesem Modell zu erreichen.

Nach Transplantation wurden täglich in 24-stündigen Intervallen von beiden Transplantaten Feinnadelbiopsien entnommen. Damit wurde das Ausmaß der zellulären Infiltration ermittelt. Bei einigen Tieren wurde zusätzlich täglich ein mononukleäres Konzentrat zur Beurteilung aktivierter Zellformen im peripheren Blut angefertigt und mittels Immunfluoreszenztechnik der Anteil der IgG-positiven Zellen als Maß für den Anteil von B-Lymphozyten ausgewertet. Außerdem wurde die Phagozytose-assoziierte Chemilumineszenz im verdünnten Vollblut sowie an separierten Granulozyten gemessen. Die täglich entnommenen Blutproben dienten zusätzlich der Laboratoriumsdiagnostik.

Nach dem Tod der Tiere wurden diese seziiert und Teile der transplantierten Organe histologisch untersucht.

2.3 PRÄOPERATIVE BEHANDLUNG:

Allen Empfängertieren wurde einen Tag vor der geplanten Operation 5 ml Heparinblut (Heprin-Natrium Braun 25000IE/ 5 ml, B. Braun Melsungen AG) entnommen. Daraus wurde ein Blutausschlag angefertigt, der als Referenzwert für die folgenden hämatologischen Präparate diente. Leukozyten- und Erythrozytenanzahl, Hämoglobin- und Hämatokritwert, sowie Serum-Harnstoff und Serum-Kreatinin wurden als grober Anhalt für den Gesundheitszustand der Tiere bewertet. Bei den Füchsen mußte aus verständlichen Gründen auf eine präoperative Diagnostik verzichtet werden.

Als antibiotische Abdeckung wurde allen Hunden am ersten präoperativen Tag ein Breitband-Penicillin-Kombinationspräparat (Benzathin-Benzylpenicillin, Procain-Benzylpenicillin, Dihydrostreptomycinsulfat, Tardomyocel comp III, Bayer Leverkusen), in einer Dosierung von 0,1 ml/kg Körpergewicht (KG) intragluteal als Depot verabreicht. Die Tiere, die eine CSA-Monotherapie von 20 mg/kg KG erhielten wurde das Immunsuppressivum bereits am ersten präoperativen Tag appliziert (vgl. 2.7. Immunsuppression).

2.4 ANÄSTHESIE:

Die Füchse wurden jeweils eingefangen und mit einer Kombination von 4 mg/kg KG Ketaminhydrochlorid (Ketanest Parke Davis, München) und 2 mg/kg KG Xylazine (Rompun 2 %, Bayer AG, Leverkusen) immobilisiert. Die Empfängerhunde wurden ca. eine halbe Stunde vor Operationsbeginn mit 0,5 mg Atropinsulfat (Drobena, Berlin) und 0,03 ml/kg eines Phenoziathinpräparates (Combelen, Bayer, Leverkusen) i.m. prämediziert. Kurz vor Narkoseeinleitung erhielten die Tiere 0,4 ml/kg KG Levomethadon (1-Polamivet, Hoechst A.G., Frankfurt a.M.) i.m. als Analgetikum. Nach beginnender Relaxation bei gut erhaltener Spontanatmung wurden alle Tiere in Rückenlage auf dem Operationstisch gelagert und unter Sichtbedingungen orotracheal intubiert (Endotrachealtubus mit Manschette Gr. 7-8 Mallinckrodt, Athlone, Ireland). Nach Narkoseeinleitung mit einem Lachgas-Halothangemisch wurde die Narkose mit einem Sauerstoff-Lachgasverhältnis von 1:2 als Trärgas aufrechterhalten. Als volatiles Anästhetikum wurde Halothan (Hoechst AG, Frankfurt a.M.) in einer Konzentration von 0,3-0,6 Vol % über einen Drägerverdunster (Vapor 19, Drägerwerke, Kiel) zugefügt.

Die Überwachung der Herzfunktion erfolgte mittels EKG und Herzfrequenz über einen Monitor (Siemens AG, München). Intraoperativ wurde den Empfängertieren langsam 1000 ml einer Ringerlösung (Apotheke der klinischen Universitätsanstalten,

München; im Folgenden: Apotheke) über eine Kunststoffverweilkanüle der Größe 18G (Abbocath -T, Venisystems) in die distale v. cephalica antebrachii infundiert.

Nach Anastomosierung der Spendernieren wurde 1 ml Furosemid-Natrium (Lasix, Hoechst AG, Frankfurt a.M.) über den venösen Zugang appliziert.

Bei Narkoseausleitung wurde bis zum Einsetzen einer ausreichenden Spontanatmung nachbeatmet. Als postoperative Analgesie wurde Pethidin (Dolantin, Hoechst AG, Frankfurt a.M.) in einer Dosierung von 0,5 ml i.m. verabreicht.

2.5 TRANSPLANTATION:

2.5.1 Nierenexplantation:

Nach Rasur, Hautentfettung mit Äther und Waschbenzin (Apotheke) und Oberflächendesinfektion (Kodan, Schülke und Mayr, Norderstedt) wurde das Abdomen unter aseptischen Bedingungen durch eine mediane Laparatomie eröffnet. Unter Schonung der Nierenhili wurden beide Nieren mit zugehörigen Gefäßen freipräpariert. Danach wurde ein entsprechendes Segment der Aorta abdominalis und v. cava inferior dargestellt, wobei alle zu- bzw. abführenden Gefäße außer Renalarterien und -venen abgebunden bzw. mit Venenclips (Ligacip, mittelgroß, Ethicon) unterbunden wurden. Die proximalen zwei Drittel der Ureteren wurden jeweils dargestellt, mobilisiert und abgesetzt. Aorta abdominalis und v. cava inferior wurden proximal und distal der Nierengefäße abgeklemmt und anschließend durchtrennt. Dieses "en-bloc-Präparat" wurde über die proximale Aorta, dessen distales Ende abgeklemmt war, mit Hilfe eines Luer-Record Adapters (Braun- Melsungen AG) blutleer gespült. Das auf 4 Grad C gekühlte Perfusat bestand aus 300-400 ml Elektrolytlösung (Ringerlösung, Apotheke) mit einem Heparinzusatz von 1000 I.E./100 ml Lösung (Heparin-Natrium, Bayer Braun, Melsungen). Danach wurde das Präparat in

sterilem Eiswasser gelagert. Die Spendertiere wurden durch 20 ml einer Kaliumchloridlösung (Kaliumchlorid einmolar, Fresenius) noch unter Narkose eingeschläfert.

2.5.2 Nierenimplantation:

Die Empfängertiere wurden bereits parallel auf die Implantation vorbereitet. Nach Darstellung der Iliacalgefäße wurde das v. cava-Segment des "en- bloc Präparates" als Interponat der v. iliaca externa jeweils proximal und distal End zu End anastomosiert (Prolene, Ethicon 6-0, doppelarmiert). Die Anastomosierung der proximalen Aorta abdominalis erfolgte End zu End mit dem proximalen Ende der A. iliaca externa mittels fortlaufender Nahttechnik mit Prolene (Ethicon 6-0, doppelarmiert). Das distale Ende der Fuchsaorta und der A. iliaca des Empfängers wurden ligiert (Sutopak, Ethicon 3-0) (125). Während der gesamten Anastomosierungszeit wurden die Nieren kontinuierlich mit 4 Grad C kalter Kochsalzlösung (Apotheke) gekühlt. Durch die parallel erfolgte Vorbehandlung der Empfänger konnte die maximale kalte Ischämiezeit auf 1,5 Stunden begrenzt werden. Nach Freigabe der Gefäße und Überprüfung der Anastomosen zeigte eine rasche und gleichmäßige Farbänderung die erfolgreiche Revaskularisierung des Transplantats. Die Ureteren wurden an zwei geeigneten Blasenabschnitten durch eine modifizierte Antirefluxplastik nach Gregoir anastomosiert (55). Danach wurden die Tiere bilateral nephrektomiert, die Ureteren unterbunden und abgesetzt und die Lage der Transplantatnieren überprüft und gegebenenfalls fixiert. Der Bauchdeckenverschluß erfolgte schichtweise mit resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl, Ethicon).

2.6 Postoperative Behandlung:

Die postoperative Therapie an den ersten 4 Tagen bestand in 200 ml Elektrolytlösung (Apotheke) und 100 ml Dextran 40 (Rheomakrodex, B. Braun Melsungen), die über einen venösen Zugang am Vorderfuß mit einer Flügelkanüle (Lem 21G, Labomed)

infundiert wurden. Zusätzlich wurden 10 mg Furosemid-Natrium i.v. (Lasix, Hoechst, Frankfurt a.M.) zur Steigerung der Diurese und Verbesserung der Nierenperfusion appliziert. Die Fortsetzung der antibiotischen Therapie erfolgte mit dem bereits präoperativ eingesetzten Depot-Antibiotikum (Tardomyocel 0,1 ml/kg KG, comp.III, Bayer Leverkusen) an jedem 4. Tag.

2.7 IMMUNSUPPRESSION:

2.7.1 Applikation von Ciclosporin und Methylprednisolon:

Das in Pulverform vorhandene Ciclosporin (Sandoz AG, Basel) wurde in einer Fettemulsion (Lipofundin 20 % ,Braun Melsungen) gelöst. In 100 ml dieser 20 %igen Fettemulsion lösten sich 500 mg des CSA-Pulvers (50). Somit wurde CSA in einer Konzentration von 5 mg/ml intravenös verabreicht. Die i.v. Gabe wurde als sicherste Applikation mit raschen Serumspiegeln gewählt (171). Zur Erstellung der Lösung wurde 500 mg CSA-Pulver abgewogen und in 100 ml der sterilen Fettlösung gegeben. Dann wurde das Ganze 90 Minuten lang bei 600 Upm und 36 Grad C unter einem "Laminar Airflow" mit einem Magnetrührer gerührt. Anschließend wurde die Lösung in 50 ml Perfusorspritzen (Braun Melsungen) aufgezogen und maximal 3 Tage aufbewahrt.

2.7.2 Dosierung in den verschiedenen Gruppen:

Die Gruppe CSA+ erhielt eine niedrig dosierte CSA-Monotherapie von 9 mg/kg KG täglich, wobei die erste Dosis kurz vor der Operation verabreicht wurde. Gruppe CSA+MP erhielt zusätzlich Methylprednisolon (Urbason solubile, Hoechst AG, Frankfurt) in folgenden Dosierungsschema:

Beginnend am ersten präoperativen Tag wurde 80 mg täglich intravenös für 3 Tage appliziert. Dann wurde die Dosis langsam auf 4 mg/kg KG für die nächsten 3 Tage reduziert, danach wurde in 3-tägigen Intervallen um 1 mg/kg KG reduziert. Bei erkennbaren Abstoßungsreaktionen wurde eine

einmalige Dosis von 200 mg verwendet, die wiederum in gleichem Schema langsam reduziert wurde. Die CSA-Dosierung von 9 mg/kg KG blieb gleich wie in Gruppe CSA+.

In der Gruppe CSA++ wurde eine hochdosierte CSA-Monotherapie von 20 mg/kg KG beginnend am 1. präoperativen Tag eingesetzt. Um Spitzenwerte zu vermeiden wurde die Dosis auf 2 Gaben in 24 Stunden aufgeteilt.

2.7.3 Bestimmung der CSA-Serumspiegel:

Die CSA-Serumspiegel konnten erst nach Beendigung der Versuche stichprobenartig in eingefrorenen Serumproben bestimmt werden. Die Blutproben wurden jeweils 24 Stunden nach CSA-Applikation (Gruppe CSA+ und CSA+MP) bzw. nach ca. 14 Stunden (Gruppe CSA++) gewonnen. Die Messungen erfolgten mittels eines Radioimmunoassays (RIA-kits, Sandoz AG Basel).

2.8 KLINISCHE PARAMETER:

2.8.1 Hämatologie:

Aus dem täglich gewonnenen venösen Heparinblut wurden Hämatokrit (Hämatokritzentrifuge, Hettich, Tuttlingen), Hämoglobingehalt, Leukozyten und Erythrozytenanzahl (Clay Adams Hematology Analyzer HA-3, Becton, Dickinson and Co., Parsippany, USA) bestimmt. Zusätzlich angefertigte Blutausstriche wurden nach Pappenheim gefärbt und nach üblichen morphologischen Kriterien ein Differentialblutbild erstellt (15, 73, 147). Die Zellen wurden bei 1000-facher Vergrößerung mit einem Oel-Immersionsobjekt (Zeiss Plan 100/1,25 Oel, Ocular x 10) unter dem Lichtmikroskop (Zeiss Lichtmikroskop Standard) ausgezählt.

2.8.2 Harnstoff und Kreatinin:

Die schnelle Orientierung über die Nierenretentionswerte erfolgte durch die Serumharnstoffbestimmung mittels Teststreifen (Harnstoff Schnell-Suchtest, Merckognost).

Später wurde eine exakte photometrische Bestimmung nach der Berthelot-Reaktion (Test Combination Harnstoff, Boehringer Mannheim) durchgeführt. Serumkreatinin wurde ebenfalls photometrisch nach der Methode von Jaffe mit Enteiweißung (Test Combination Creatinin, Boehringer Mannheim) gemessen.

2.9. IMMUNOLOGISCHES MONITORING:

2.9.1 Feinnadelbiopsie und Aspirationszytologie:

Die Feinnadelbiopsie ist eine risikoarme Methode zur Gewinnung zytologischer Informationen über die zelluläre Infiltration des Transplantates (56, 57, 58, 65, 98).

Im Gegensatz zur Stanzbiopsie kann bei geringem Blutungs- und Verletzungsrisiko Stärke, Dauer und Verlauf zellulärer Abstoßungsreaktionen beurteilt werden.

Zur Durchführung erhielten die Hunde eine intravenöse Methohexital-Kurznaarkose (100-140 mg Brevimythal-Natrium, Lilly, Homburg). Beide transplantierten Nieren wurden nach Oberflächendesinfektion (Kodan-Tinktur S&M, Norderstedt) palpiert und mit einer Kinderspinalnadel (22 G 31/2, Becton und Dickinson, San Augustin de Guardalix, Spanien) punktiert. Dabei war darauf zu achten, daß die Cortexareale speziell an den Nierenpolen und nicht am Nierenhilus oder Nierenbecken getroffen wurden. Nachdem die korrekte Lage der Spinalnadel durch pulssynchrone Bewegung gesichert war, wurde mittels einer mit 2 ml Hank'scher Lösung (mit Kalzium und 100 I.E./ml Heparin) gefüllte Einmalspritze (Volumen 10 ml) aspiriert. Um sofort einen maximalen Sog zu erreichen, wurde die Spritze in einer Biopsiehalterung (Camecon AB, Täby, Schweden) eingespannt. Unter Sog wurde nun durch leichtes Hin- und Herbewegen der Biopsievorrichtung in Einstichrichtung Aspirationsmaterial gewonnen. Sobald dieses im durchsichtigen Ansatzteil der Spinalnadel sichtbar wurde, wurde diese noch unter Sog entfernt. Traf man versehentlich ein Blutgefäß, so mußte die Biopsie an anderer Stelle wiederholt werden. Eine Kontamination mit größeren Mengen Blut verfälscht die

korrekte Auswertung des Aspirates. Das gewonnene Aspirat wurde sofort in weiteren 4 ml heparinisierten Hank'scher Lösung suspendiert. Von dem bereits gewonnenen venösen Blut wurde 1 Tropfen mit 2 ml heparinisierten Lösung vermischt. Zur Weiterverarbeitung wurde Biopsiematerial und Blutsuspension mit einer Zytozentrifuge (Cytospin 2, Shandon, Runcom, England) bei 500 Upm für 5 Minuten auf Objektträger aufgebracht und nach Pappenheim gefärbt. Die Präparate wurden nach folgenden Kriterien lichtmikroskopisch bei 1000-facher Vergrößerung unter dem Oelimmersionsobjektiv ausgewertet.

2.9.2 Morphologische Differenzierung:

NIERENPARENCHYMZELLEN:

Für die Auswertung der Biopsiepräparate wurden grundsätzlich nur Präparationen mit mehr als 5 Parenchymzellen/100 Leukozyten beurteilt. Dabei wurden folgende Parenchymzellen unterschieden (57, 58):

Endothelzellen stammen aus dem Gefäßendothel des Kapillarbettes und sind zahlenmäßig überwiegend. Ihre Größe beträgt 20-30 μm . Das Zytoplasma ist meist ohne erkennbare Strukturierung und nur leicht blau-grau gefärbt. Der eher blasse Kern hat eine lockere Chromatinstruktur und normalerweise 1-2 auffallende, taubenblau gefärbte Nucleoli.

Glomerulumzellen sind mit 5-12 μm relativ klein und des öfteren im Zellverband zu sehen. Der Kern ist klein, rund und dunkelblau gefärbt, während sich das Zytoplasma blaß und klar darstellt.

Proximale Tubuluszellen sind mit 10-15 μm Durchmesser geringfügig größer als Glomerulumzellen und besitzen ein basophiles, schwach ausgeprägtes Zytoplasma. Der oval bis runde Kern ist dunkel gefärbt und hat 1-2 Nucleoli.

Distale Tubuluszellen sind 20-25 μm große Zellen mit einem ausgedehnten, blassen und strukturlosen Zytoplasma. Der fein granuliert Nucleolus ist rund und enthält normalerweise nur ein Kernkörperchen.

INFILTRATZELLEN:

Für die morphologische Differenzierung des Blut- und Feinnadelpräparates wurden jeweils 100 Zellen ausgezählt und der prozentuale Anteil der einzelnen Zellpopulationen bestimmt. Durch zweimalige Wiederholung wurde die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse überprüft. Die Differenzierung erfolgte nach den bekannten hämatologisch-zytologischen Kriterien und umfaßte folgende Zellpopulationen (15, 57, 58, 73, 147).

Kleine Lymphozyten sind mit einem Durchmesser von 7-10 μm (beim Hund) etwas größer als Erythrozyten. Sie besitzen ein schmales, basophiles Zytoplasma. Der Zellkern ist rund oder leicht nierenförmig, sein Chromatinmuster dicht und grobschollig marmoriert. Nucleolen sieht man ohne Spezialfärbung gelegentlich als kleine Aufhellung.

Große Lymphozyten sind vor allem durch eine Zunahme des Zytoplasmasaumes gekennzeichnet, der einen hellblauen Farbton besitzt. Der Durchmesser beträgt 12-16 μm (beim Hund). Der runde, zentral bis leicht exzentrisch gelegene Kern besitzt eine Chromatinstruktur von unterschiedlicher Dichte, die in Klumpen angeordnet ist.

Große granuliert Lymphozyten oder "Large Granular Lymphocytes" (LGL) zeichnen sich durch typische azurophile Granula aus, die sich bevorzugt in der perinukleären Aufhellungszone des sehr dichten, rund bis nierenförmigen Zellkerns finden.

Aktivierter Lymphozyt haben etwa die zweifache Größe normaler Lymphozyten. Das stärker basophile Zytoplasma hat einen dunklen Randsaum. Der rund bis ovale Kern besitzt ein lockeres Chromatingerüst.

Lymphoblasten sind mit einem Durchmesser von 15-25 μm 4-6 x größer als normale kleine Lymphozyten. Der runde, hellblaue Kern zeigt ein feines Chromatinnetz. Das Zytoplasma ist dunkel und deutlich basophil.

Plasmablasten sind 16-22 μm im Durchmesser. Das dunkelblau gefärbte Zytoplasma ist breiter als das der Lymphoblasten. Charakteristisch ist eine perinukleäre Aufhellungszone um den dichten, durch blau-rotes Chromatin gezeichneten Kern. Typisch sind mehrere gut sichtbare Kernkörperchen.

Plasmazellen sind mit 12-18 μm kleiner als die Plasmablasten und stellen die reife immunglobulinsezernierende Zelle der B-Zellreihe dar. Der meist exzentrisch gelegene Zellkern ist durch eine ausgesprochen grobmaschige Chromatinstruktur gekennzeichnet. Zwischen den einzelnen Chromatinpartikeln sind schmale, helle Felder, wobei häufig der Eindruck einer Radspeichenstruktur entsteht. Das Zytoplasma besitzt ovale Form und ist von kornblumenblauer Farbe.

Kleine Monozyten entsprechen den Monozyten des peripheren Blutes. Sie sind 12-16 μm im Durchmesser (beim Hund) und haben einen runden bis ovalen Kern von lockerer Chromatinstruktur, der sich häufig zweigelappt darstellt. Das blaugraue Zytoplasma kann gelegentlich Granulationen enthalten.

Große Monozyten sind 25-35 μm groß und haben einen großen, unregelmäßigen Kern, der nierenförmige bis vielgelappte Form annehmen kann. Das blasse Chromatin ist von lockerer Struktur.

Das Zytoplasma ist graublau und enthält manchmal Granulationen.

Makrophagen sind phagozytisch hochaktive Monozyten mit einem Durchmesser bis zu 60 μm . Das ausgedehnte Zytoplasma enthält phagozytisiertes Material und erscheint vacuolisiert. Der rund-ovale Kern ist meist pyknotisch und exzentrisch gelegen. Diese Zellen wurden nur im Biopsiepräparat nicht dagegen im peripheren Blut gefunden.

Neutrophile, segmentkernige Granulozyten sind 9-13 μm im Durchmesser. Der Zellkern enthält dichtes Chromatin und weist meist 2-3 Einschnürungen auf. Daraus ergibt sich eine gelappte Kernstruktur mit 3-4 Segmenten.

Neutrophile stabkernige Granulozyten stehen entwicklungs-mäßig zwischen Metamyelozyten und segmentkernigen Granulozyten. Der Kern besitzt eine bandförmige Struktur, wobei beginnende Einschnürungen sichtbar sein können, die jedoch nicht mehr als 2/3 des Kerndurchmessers übersteigen sollen.

Eosinophile Granulozyten sind 10-15 μm im Durchmesser (beim Hund). Der Zellkern ist ebenfalls gelappt und besteht aus 2-3 Segmenten. Das leicht rötlich gefärbte Zytoplasma enthält blasenförmige eosinophile Granula.

Basophile Granulozyten stehen mit 9,5-14 μm zwischen eosinophilen und neutrophilen Granulozyten. Der Kern besteht meist aus 2 kompakten Segmenten. Das blaßrosa gefärbte Zytoplasma enthält zahlreiche basophile Granulationen.

2.9.3 Corrected Increment

Für die Beurteilung der zellulären Infiltration der Transplantatniere wurde die prozentuale Verteilung der einzelnen Zellpopulationen im Biopsiepräparat und im

Blutpräparat bestimmt. Da das Biopsiepräparat aber normalerweise mit einem unterschiedlich großen Blutanteil kontaminiert ist, wurden nun die Prozentzahlen des peripheren Blutes von denen der Biopsie subtrahiert. Durch diese Korrektur ergab sich die isolierte Infiltration des Organs (57, 58). Da nun verschiedene Zellformen in unterschiedlich starkem Ausmaß an der Abstoßung beteiligt sind, wurden die einzelnen Zellpopulationen mit einem Wertigkeitsfaktor multipliziert. So erhielten z.B. Blasten und Makrophagen den Faktor 1,0, Lymphozyten 0,1 und Monozyoten 0,2 (siehe Tab.1) (57, 58).

Tab.1 : Beispiel der Berechnung des C.I.

	Pc	Pb	Lb	aLy	LGL	Ly	Neu	Eos	Baso	Mo	Ma	Tc	Ec
FNB	-	1	-	1	1	3	75	1	-	18	-	5	18
-pB	-	-	-	-	-	5	84	4	-	7	-	-	-
	-	1	-	1	1	-	-	-	-	11	-		
x	1	1	1	0,5	0,2	0,1	-	0,1	-	0,2	1		
Faktor													
	-	1	-	0,5	0,2	-	-	-	-	2,2	-	Tot.=3,9	

=====

Die Addition der einzelnen, auf diese Weise erhaltenen Zahlen gibt die Infiltration als numerischen Wert an wird als Corrected Increment (C.I.) bezeichnet. Darin geht sowohl die Anzahl, als auch die Wertigkeit der beteiligten Zellen ein. Im allogenen Hundemodell wurde folgende Einteilung für die Stärke der Infiltration getroffen (50):

C.I.: 0 - 2 normale Infiltration
 2 - 5 mittlere Infiltration
 5 - x starke Infiltration, Abstoßung

2.9.4 Mononukleäres Konzentrat und Granulozytenseparation:

Jeweils 1 ml des heparinisierten Blutes (50 IU/ml) wurden mit 9 ml Hank'scher Lösung (Apotheke) verdünnt und über 3 ml Ficoll-Isopaque (Apotheke) der Dichte 1,075 g geschichtet. Nach 20-minütigem Zentrifugieren bei 3000 Upm (Hettich Rotana K oder S, Hettich, Tuttlingen) wurde der mononukleäre Ring über dem Ficoll abgehoben und in 0,9 %iger Kochsalzlösung resuspendiert. Die unter dem Ficoll befindlichen Granulozyten und Erythrozyten wurden für 30 Sekunden mit 3 ml Aqua dest. lysiert und mit der entsprechenden Menge 1,8 %iger Kochsalzlösung wieder isoton gelöst. Nach zweimaligem Waschen und jeweils anschließender Zentrifugation bei 1500 Upm wurde der Überstand abgegossen und die Zellen mit 500 um kalzium- und magnesiumfreier, phosphatgepufferter Kochsalzlösung (pH 7,4) aufgefüllt.

Nach Zählung und Einstellung auf 1×10^6 Zellen/ml wurden von der mononukleären Zellsuspension Zytozentrifugenpräparate angefertigt (siehe 2.9.1) und nach Pappenheim gefärbt. Die morphologische Differenzierung erfolgte nach denselben Kriterien wie für die Biopsie- und Blutpräparate. Für eine Beurteilung des Aktivierungszustandes wurden Lymphoblasten, Plasmablasten, Plasmazellen und aktivierte Lymphozyten als aktivierte Zellformen zusammengefaßt und als Prozentwerte errechnet.

2.9.5 IgG-positive Zellen :

Für die quantitative Beurteilung von Zellen, die Immunglobulin G an der Oberfläche tragen (IgG-positive Zellen) wurde die direkte Immunfluoreszenztechnik angewandt. Dabei werden spezifische Antikörper an fluoreszierende Farbstoffe gekoppelt. Im ultravioletten Licht werden diese Farbstoffe

mikroskopisch sichtbar und die Antigenverteilung im Gewebe oder auf einer bestimmten Subpopulationen von Zellen wird erkennbar (16).

Zur Durchführung dieser Technik wurden jeweils 150 μ l der auf 1×10^6 Zellen/ml eingestellten mononukleären Suspension mit 30 μ l 1:10 verdünntem fluoreszenzmarkiertem Kaninchen-Anti-Hunde-IgG (Miles-Yeda LTD, Elkhart, Indianapolis, USA) vermischt und für 1 Stunde bei 4 Grad C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die überschüssigen, d.h. nicht an Zellen gebundene Antikörper mit 2 ml isotoner Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mittels Zentrifugation bei 1500 Upm (Zentrifuge Rotanda S, Hettich, Tuttlingen) ausgewaschen und der Überstand bis auf ca. 50 μ l abgehoben.

Die Auswertung erfolgte unter dem Fluoreszenzmikroskop (Großes Forschungsmikroskop, Kurzpassfilter KP 600, Anregungsfilter 200, Oel-Dunkelfeldkondensor Zeiss, Oberkochen, BRD), bei 400-facher Vergrößerung, wobei 200 Zellen ausgezählt wurden. Dazu wurde jeweils ein kleiner Tropfen der Zellsuspension auf einen Objektträger aufgebracht und mit einem Deckgläschen bedeckt. Die positiven Zellen stellten sich durch eine leuchtend grüne, ringförmige Fluoreszenz um den dunkelroten Zellkörper dar. Es wurden nur Zellen mit einer deutlichen, ringförmigen Fluoreszenz bzw. mehr als 3 punktförmigen Fluoreszenzmarkierungen als positiv gewertet und ihr Anteil in Prozent angegeben.

2.9.6 Chemilumineszenz:

Die Messung erfolgte leicht modifiziert nach dem in der Arbeitsanleitung "Chemilumineszenz" von Boehringer (Mannheim) (18) beschriebenen Meßansatz. Als Verstärkersubstanz wurde Luminol (5-N-2-3 dihydro-1,4 - Phtalazindion, 95 % - 97 % Cristallin, Sigma, Taufkirchen) eingesetzt, das in folgender Weise aufbereitet wurde:

3,5 mg Luminol wurden in 2 ml DMSO (Uvasol, Merck) gelöst und mit Aqua bidest. auf eine Konzentration von 200 μ mol/l eingestellt und bei 4 Grad C gelagert. Ebenfalls gemäß der

Arbeitsanleitung (18) wurde veronalgepufferte Salzlösung angesetzt und nach Sterilfiltration bei 4 Grad C gelagert. Zymosan (Zymosan A, Sigma, Taufkirchen) wurde auf folgende Weise aufbereitet:

25 mg wurden in 10 ml PBS suspendiert, im Wasserbad während 30 Minuten auf 90 Grad C erhitzt, dann im Mörser mechanisch zerkleinert und bei minus 20 Grad C aufbewahrt. Frisches Serum des jeweiligen Versuchstieres wurde zur Opsonierung des Zymosans verwendet: Bei Raumtemperatur wurden gleiche Teile Serum und Zymosan auf dem Schüttler (Adams Nutator, Becton und Dickinson) für 30 Minuten inkubiert und dann 10 Minuten bei 1200 Upm zentrifugiert (Hettich Rotana K, Tuttlingen). Das so erhaltene Präzipitat wurde nach zweimaligem Waschen in 0,9 %iger Kochsalzlösung in der Ausgangsmenge physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und bei 4 Grad C aufbewahrt. Die für jeweils einen Versuch benötigte Zymosanmenge wurde bereits vor Versuchsbeginn opsoniert.

Der eigentliche Meßansatz setzte sich wie folgt zusammen (siehe Tab.2).

In die 3 ml fassenden Meßküvetten (Berthold, Wildbad) wurden jeweils 650 µl Veronalpuffer (pH 7,3), 100 µl Luminolverdünnung und 200 µl Zellsuspension bzw. Blutverdünnung pipettiert. Das heparinisierte Vollblut war bereits vorher in calcium- und magnesiumfreiem PBS 1:10 verdünnt (Endverdünnung im Meßansatz 1:50) und die Granulozyten auf 5×10^5 Zellen/ml eingestellt worden (siehe Abschnitt 2.9.4) Nach 10-minütiger Vorinkubationszeit bei 37 Grad C im Dunkeln wurde die Reaktion durch Zufügen von 50 µl opsoniertem Zymosan gestartet. Der Meßansatz wurde vor jeder Einpipettierung kurz auf dem Vortex (Cenco Instruments, Breda, Niederlande) gemischt. Die Photonenemission wurde während der 30-minütigen Meßzeit von einem 6-Kanal Biolumaten (LB 9505, Berthold, Wildbad), rechnergestützt (Apple IIe, Apple-Computer, Cupertino, USA) registriert und die Ergebnisse auf einem Matrix-Drucker (RX 80, Epson, Nagano-Ken, Japan) ausgedruckt. Ausgewertet wurden die

maximalen Impulse/min. (cpm), die während der Meßzeit erreicht wurden.

Tab.2: Meßansatz für die Chemilumineszenz-registrierung

Veronalpuffer	650 µl
Luminol 200 umol/l	100 µl
Blut 1:10 oder 10^5 Zellen	200 µl
Autolog opsoniertes Zymosan	50 µl

Gesamtvolumen	1 000 µl

2.10. PATHOLOGIE

Nach dem Tod der Tiere wurde in jedem Fall eine Sektion durchgeführt. Dabei wurden mit Ausnahme des Gehirns sämtliche Organsysteme makroskopisch inspiziert. Von den Transplantatnieren wurde jeweils ein Teil in 5 %igem Formalin fixiert, ein anderer Teil in flüssigem Stickstoff schnellgefroren und bis zur histologischen Begutachtung bei minus 20 Grad C aufbewahrt.

2.11. STATISTIK:

Für die Berechnung der Dauer der Überlebenszeit wurde der Stichprobenumfang zunächst auf Normalverteilung untersucht und anschließend mit dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (146) auf signifikante Unterschiede zur historischen Kontrollgruppe untersucht.

Die Korrelation zwischen jeweils rechter und linker Transplantatniere wurde durch eine Regressionsanalyse mit Berechnung des Korrelationskoeffizienten dargestellt.

3. ERGEBNISSE

3.1. ÜBERLEBENSZEIT DER EMPFÄNGER:

Die Überlebenszeit der 16 transplantierten Tiere ist in Tabelle 3, nach Überlebenszeiten, Todesursachen und pathohistologischen Befunden aufgelistet. Acht dieser Tiere wurden mit einer CSA Mono-Therapie (Gruppe C) und 8 Tiere mit einer Kombination von CSA und Methylprednisolon (Gruppe M) behandelt. Nach Ausschluß von interkurrenten Komplikationen wurde von 8 Tieren die Überlebenszeit für die Auswertung herangezogen. Bei diesen Tieren bestand jeweils eine Uramie und es war keine andere Todesursache erkennbar. Die mittlere Überlebenszeit für diese an der Abstoßung gestorbenen Tiere war $10,9 \pm 3,0$ Tage ($n=8$). Der Unterschied zur historischen Kontrollgruppe (148) mit $6,5 \pm 0,4$ Tagen ($n=8$) ist hoch signifikant ($p<0,001$, U-Test). Durch CSA -, bzw. CSA+MP - Therapie wird eine Verlängerung der Überlebenszeit um 68% erreicht.

Tab.3: Überlebenszeiten, Todesursachen und pathohistologische Befunde der Transplantatempfänger

GRUPPE	VERS.TIER	SVT	TODESURSACHE	PATHOHISTOLOGIE	
CSA - Monotherapie	niedrig-dosiert	C1	5	Lungenembolie	O Anhalt f.Abstoßung
		C2	15	Urämie	anämische Nekrose
		C3	7	Urämie	anämische Nekrose
					humorale Reaktion.
		C4	6	Volumenmangel- schock	geringe Infiltration und Tubulusnekrosen
	C5	13	Urämie	stärkere zelluläre Infiltration	
	hoch-dosiert	C6	12	Urämie	hämorrhag.Nekrose
		C7	5	Nierenvenen- abriß	geringe Infiltrate
		C8	8	Nierenvenen- thrombose li.	li.:hämorrhag.Nekrose re.:zelluläre Infiltrate
	CSA + MP - Kombinations- therapie	M1	9	Urämie	minimale zelluläre Reaktion
		M2	6	Invaginations- ileus	O Anhalt f.Abstoßung
		M3	5	Ureterausriß	O Anhalt f.Abstoßung
		M4	8	Urämie	Autolyse, geringe zelluläre Infiltration
M5		14	Urämie	hämorrhag.Nekrose	
M6		5	ischämische Nierenschädigung	anämische Nekrose	
M7		9	Urämie	anämische Nekrose	
M8		5	Volumenmangel- schock	minim. zell.Reaktion	

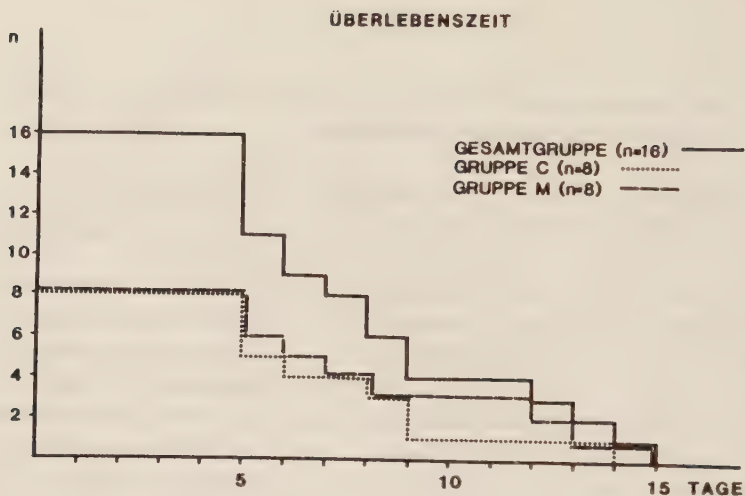


Abb.1: Überlebenszeiten aller Transplantatempfänger (n=16)

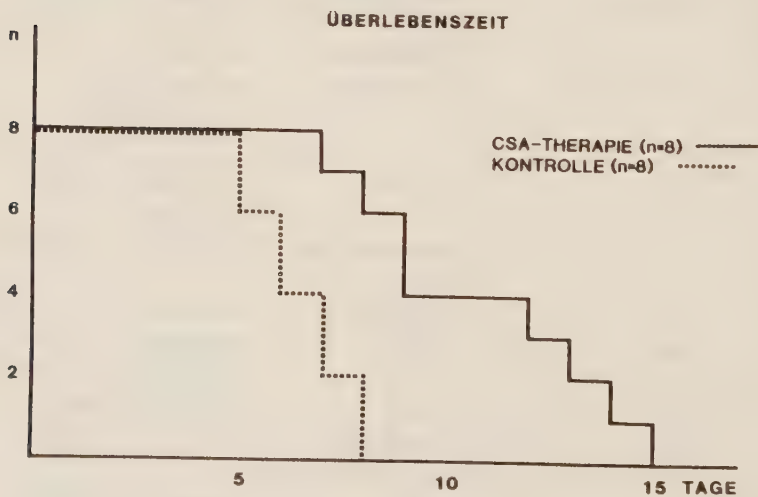


Abb.2: Überlebenszeiten der an Abstoßung gestorbenen Tiere (n=8) und der unbehandelten Kontrolltiere (n=8) (148)

Abb.1 zeigt die Überlebenszeit der gesamten Versuchstiere sowie die Verläufe der beiden unterschiedlich theapierten Gruppen. In Abb. 2 ist die Überlebenszeit der an Abstoßung gestorbenen Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe (148) graphisch dargestellt.

Tab.4 zeigt in einer Übersicht die Ergebnisse von Nierentransplantationen im System Fuchs-Hund, die bisher im Institut für Chirurgische Forschung ermittelt wurden.

Tab.4: Bisherige Nierentransplantationen im System
Fuchs-Hund

SPENDER	EMPFÄNGER	IMMUNSUPPRESSON	ANZAHL	SVT (TAGE)	LIT
Fuchs	Hund	-	8	$6,5 \pm 0,4$	(148)
Fuchs	Hund	AMS	5	$15,8 \pm 0,7$	(148)
Fuchs	Hund	ALG	9	$13,2 \pm 1,0$	(148)
Fuchs	Beagle	ALG + AMS	7	$17,7 \pm 0,9$	(128)
Fuchs	Beagle	PIgG	5	$7,8 \pm 0,7$	(139)
Fuchs	Beagle	PIgG + ALG+Pred.	13	$20,2 \pm 4,6$	(139)
Fuchs	Beagle	ALG + Fuchsery.	6	$14,3 \pm 2,8$	(99)
Fuchs	Hund	CSA (+MP)	8	$10,9 \pm 3,0$	

3.2. POSTOPERATIVE KOMPLIKATIONEN

Durch die präoperativ und postoperativ weitergeführte antibiotische Behandlung (Tardomyocel comp III, Bayer Leverkusen) konnten Infektionen weitgehend vermieden werden. Selten traten Infekte des oberen Respirationstraktes auf. Nur ein Tier (C8) entwickelte eine generalisierte Sepsis. Diese trat jedoch erst nach Relaparatomie am 3. postoperativen Tag auf, bei der die linke Transplantatniere, die durch eine Venenthrombose komplett nekrotisiert war, entfernt wurde. Gelegentliches Erbrechen am Beginn der CSA-Therapie konnte durch 10mg Metoclopramid i.v. (Paspertin, Kali Chemie Hannover) vor Beginn der Infusion wirksam unterdrückt werden.

An weiteren postoperativen Komplikationen (vergl. Tab.3) sind außer der bereits erwähnten Nierenvenenthrombose eine tödlich verlaufende Lungenarterienembolie und 2 ebenfalls tödlich verlaufende Fälle eines progredienten hämorrhagischen Schockverlaufs auf Grund innerer Blutungen zu nennen. Dabei konnte bei Sektion in einem dieser beiden Fälle keine Ursache von chirurgischer Seite gefunden werden. Zwei chirurgische Komplikationen waren ein Nierenvenenabriß und ein Ureterausriß mit Blutung in die Blase und folgender Tamponade. Ein weiteres Tier verstarb an einem Invaginationsileus bereits am 6. Tag, nachdem die Symptomatik bereits durch Nahrungsverweigerung und unkontrollierbares Erbrechen sichtbar geworden war. In einem Fall waren die Transplantatnieren bereits präoperativ durch Ischämie geschädigt. Bedingt durch gleichzeitige Herzentnahme des Fuchsspenders sank bei Manipulationen am Herzen der systemische Blutdruck und damit auch der Perfusionsdruck der Nieren für einige Zeit auf unzureichende Werte.

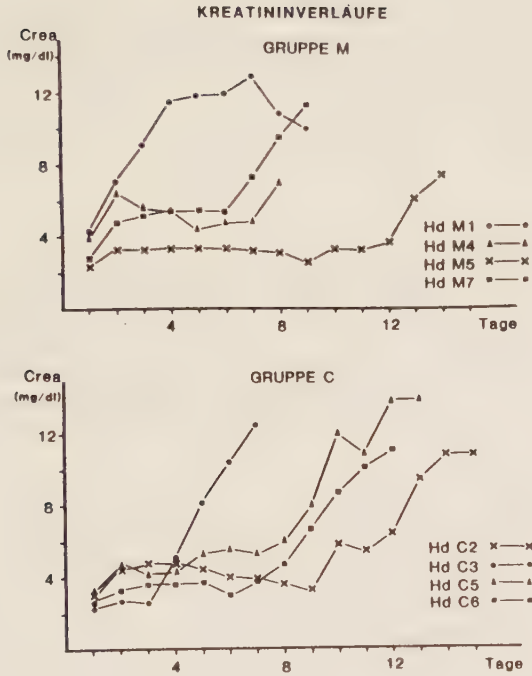


Abb.3: Verlauf der Kreatininserumspiegel der an Abstoßung gestorbenen Tiere

3.3. VERLAUF DER KREATINISERUMSPIEGEL

Die postoperativen Kreatininverläufe der an Abstoßung gestorbenen Tiere sind in Abb. 3 dargestellt. Das obere Diagramm zeigt den Verlauf für Gruppe M, das untere für Gruppe C. Die Werte erreichen in fast allen Fällen ein postoperatives Niveau von 2-6mg/dl. Nur in einem Fall (M1) ist der postoperative Anstieg sehr steil und fällt kurz vor dem Tod nochmals geringfügig ab. In allen anderen Fällen steigen die Werte erst präfinal steil an. Die Verläufe der Harnstoffbestimmung sind vergleichbar.

3.4. FEINNADELASPIRATIONSZYTOLOGIE

Die Technik der Feinnadelbiopsie mit zytologischer Auswertung des Aspirates wurde zum ersten Mal in einem konkordant-xenogenen Transplantationsmodell verwendet. In allogenen Tiermodellen (22, 50, 84) und im semixenogenen Modell Wolf-Hund (50) hat sich bereits die Brauchbarkeit dieses Verfahrens zur Erkennung akuter zellulärer Abstoßungsreaktionen bestätigt.

Im folgenden sind die Ergebnisse der FNAC sowohl in Bezug auf das "Total Corrected Increment" als auch in Bezug auf verschiedene Einzelzellpopulationen, aus welchen das C.I. letztlich resultiert, dargestellt.

3.4.1 Corrected Increment

Wie aus Tabelle 21 ersichtlich erreichen die C.I.-Werte in Gruppe C erst ab Tag 8 (C6) bzw. Tag 10 (C2 und C5) Werte über 5,0.

In Gruppe M konnte in keinem Fall ein Wert über 5,0 registriert werden, auch nicht bei dem 14 Tage lang lebenden Tier M 5. Den höchsten Inkrementwert in dieser Gruppe erreichte Tier M 1 am 6.Tag mit einem Wert von 3,6.

In Abb. 4 sind die gemittelten Inkrementwerte für jede Gruppe aufgetragen. Um die Unterschiede, die erst in der zweiten Woche deutlich werden, besser darzustellen, wurde in Abb. 5 der am jeweils ersten und letzten Biopsietag ermittelte

Incrementwert der an Abstoßung gestorbenen Tiere verbunden. So sieht man einen deutlichen Anstieg bis auf Werte über 8,0 bei den langlebenden Versuchstieren aus Gruppe C. Der Anstieg in dem jeweiligen Biopsieintervall ist bei Gruppe M nur gering und erreicht den Wert 3,0 nicht. In einem Fall (M7) fällt der Wert sogar leicht ab. Bei dem kurzlebenden Tier aus Gruppe C (C3) ist der Anstieg ebenfalls nur minimal.

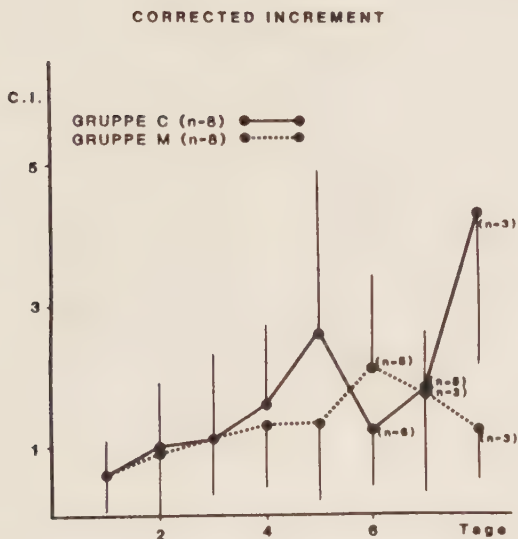


Abb. 4: C.I.-Werte für Gruppe C und M

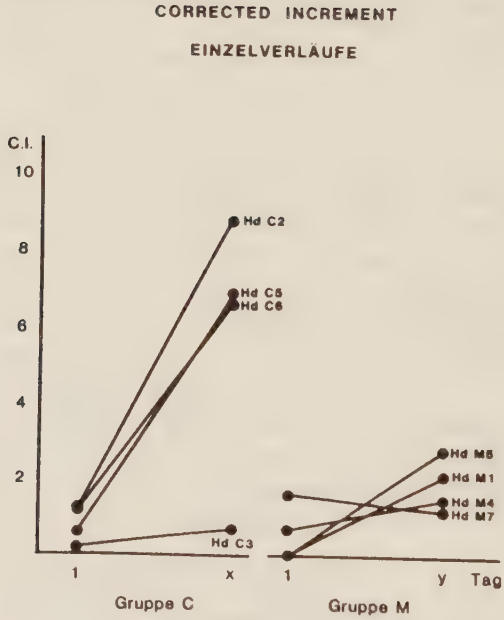


Abb.5: C.I.-Werte am jeweils ersten und letzten Biopsietag der an Abstoßung gestorbenen Tiere

3.4.2 Lymphozyten und Monozyten

Im folgenden sind die Lymphozyten und Monozytenanteile im Aspirat vergleichend mit den Werten des peripheren Blutes dargestellt. Dies sind die Zellpopulationen die wesentlichen Anteil am Wert des C.I. haben. "Large Granular Lymphozytes", aktivierte Lymphozyten und Blasten waren selten und nur in geringer Anzahl am Wert des C.I. beteiligt.

Die Lymphozyten im Transplantat steigen bei Gruppe C kontinuierlich auf 18% am 8. Tag an. In Gruppe M ist der Anstieg deutlich geringer und die Werte übersteigen 6% nicht (Abb.6). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen ist auch im Blutaussstrich sichtbar (Abb.7). Nach einem Abfall der Werte bis zum ersten postoperativen Tag in beiden Gruppen steigen die Werte in Gruppe C sichtbar an. In Gruppe M bleiben die Werte unter dem Ausgangsniveau und zeigen am 6. Tag ein Maximum, das jedoch den Ausgangswert von 5,6% nur gering übersteigt. Der Gipfel in Gruppe C ist ebenfalls am 6. bzw. 7. Tag, liegt aber nahezu doppelt so hoch wie in Gruppe M.

Die Verläufe der Monozyten im Transplantat steigen p.o. steil an und verlaufen in beiden Gruppen nahezu parallel (Abb.8). Auch die Monozyten des peripheren Blutes unterscheiden sich in beiden Gruppen nur gering. Sie steigen ebenfalls p.o. und verbleiben auf erhöhtem Niveau (Abb.9).

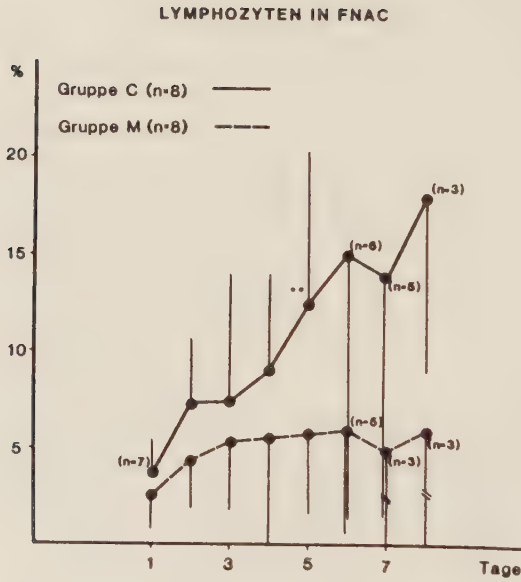


Abb.6: Lymphozyten (%) in FNAC (** $p \leq 0,01$)

LYMPHOZYTEN IM PERIPHEREN BLUT

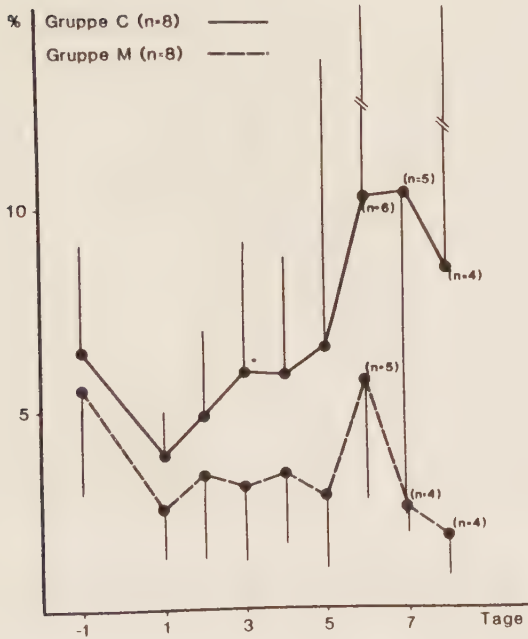


Abb.7: Lymphozyten (%) im peripheren Blut (* $p \leq 0,05$)

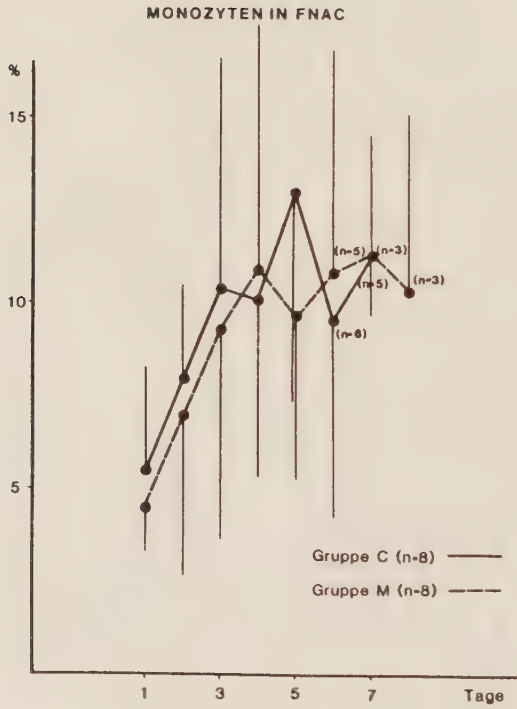


Abb.8: Monozyten in FNAC

MONOZYTEN IM PERIPHEREN BLUT

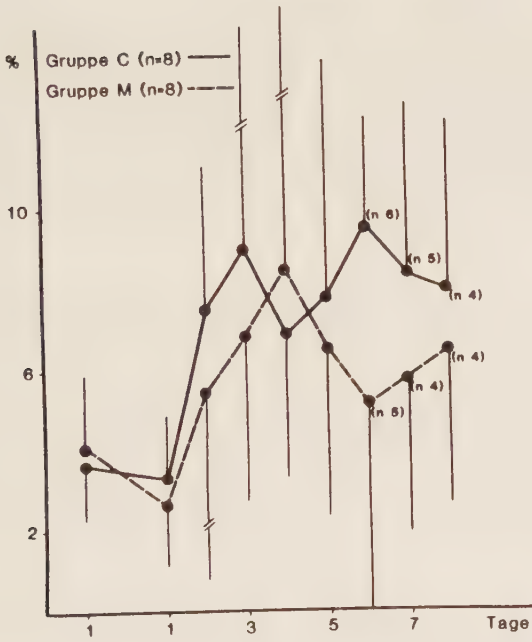


Abb.9: Monozyten im peripheren Blut

3.5 VERGLEICH ZWISCHEN SIMULTANBIOPSIEN

In diesem Versuchsmodell konnten auch erstmalig zwei Nieren aus dem gleichen Spender in einem Empfängertier regelmäßig biopsiert werden. In Abb.10 ist die bei der Regressionsanalyse ermittelte Regressionsgerade mit den einzelnen Meßpunkten dargestellt. Die Gerade wurde aus den C.I.-Werten von 35 Simultanbiopsien, d.h. von Biopsien bei denen rechte und linke Niere jeweils biopsiert wurde, errechnet (n=35). Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,94. Auch die Pathohistologie beschrieb grundsätzlich die gleichen Veränderungen in rechter und linker Transplantniere (vergl.3.9 Pathologie).

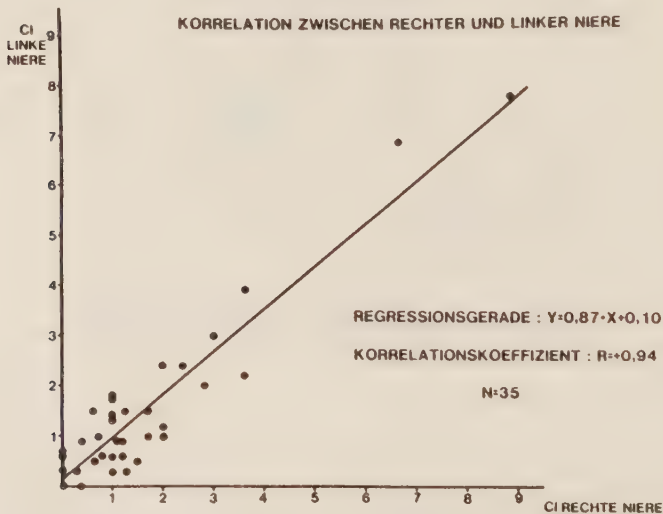


Abb.10: Korrelation zwischen jeweils rechter und linker FNAC

3.6 LEUKOZYTENPOPULATIONEN IM PERIPHEREN BLUT

Die Ergebnisse der unterschiedlichen Zellpopulationen im Blutausstrich wurden bereits vergleichend bei den Ergebnissen der FNAC dargestellt (vergl.2.4).

3.6.1 Gesamtleukozyten

Die Gesamtleukozytenzahl steigt bei beiden Gruppen postoperativ stark an und fällt innerhalb der ersten beiden p.o. Tage wieder deutlich ab (Abb.11). Im weiteren Verlauf sinken die Werte bei Gruppe C langsam auf 10 000 Zellen/ul am 8. Tag ab. Die Werte bei Gruppe M liegen wesentlich höher und bewegen sich um 23 000 Zellen/ul.

3.6.2 Gesamtlymphozyten

Die Absolutzahlen der Gesamtlymphozyten steigen in Gruppe C postoperativ steil an und bleiben auf erhöhtem Niveau mit einem Gipfel am 7. postoperativen Tag (Abb.12). In Gruppe M ist der p.o. Anstieg weniger deutlich ausgeprägt bei insgesamt abfallender Tendenz. Am 6. Tag resultiert ein Maximum. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen am Tag 3 ist statistisch signifikant ($p \leq 0,05$).

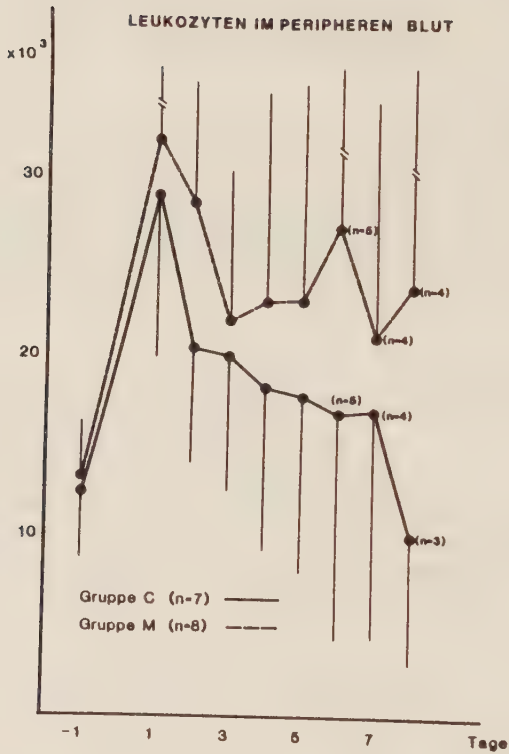


Abb.11: Gesamtleukozyten im peripheren Blut
(Bei Gruppe C wurden die Werte von Hund C8
mit Sepsis nicht mit einbezogen)

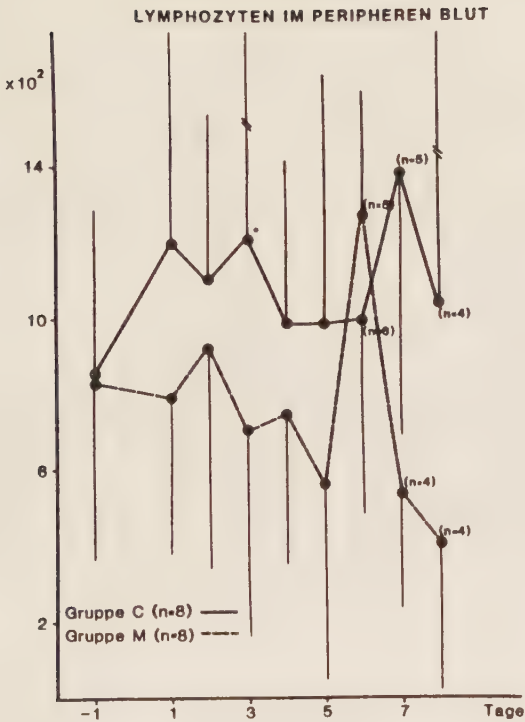


Abb.12: Gesamtlymphozyten im peripheren Blut (* $p \leq 0,05$)

3.6.3 Mononukleäres Konzentrat

Bei der Auswertung des mononukleären Konzentrats wurden aktivierte Lymphozytenformen (Lymphoblasten, Plasmablasten, Plasmazellen und aktivierte Lymphozyten) zusammengefaßt und in % der Lymphozyten angegeben. In Abb. 13 sind die gemittelten Werte von 6 Tieren vergleichend mit IgG positiven Zellen und Chemilumineszenzaktivität im verdünnten Vollblut bis zum 8. Tag dargestellt. Ausgehend von 8,6% am ersten präoperativen Tag erreichen die Werte am 2. und 3. p.o.Tag ein Maximum von 16,7% bzw. 16,2% ($p < 0,05$, bezogen auf den Ausgangswert),

3.6.4 IgG-positive Zellen

Immunfluoreszenz markierte Zellen haben am 3. Tag ein deutliches Maximum (Abb. 13). Dabei ist der Unterschied zum Ausgangswert statistisch signifikant ($p \leq 0,05$). Der Abfall an Tag 0-2 ebenfalls ($p \leq 0,05$)

3.7 CHEMILUMINESZENZ

3.7.1 Vollblut

Die gemittelten Werte der Chemilumineszenzaktivität sind am 3. und 7. p.o. Tag deutlich erhöht (Abb. 13).

3.7.2 Separierte Granulozyten

Die Mittelwerte der Chemilumineszenzaktivität separierter Granulozyten (vergl. Tabelle 24) fallen ebenfalls am Operationstag ab und bewegen sich ab dem 1. Tag um das Doppelte des Ausgangswertes (200%).

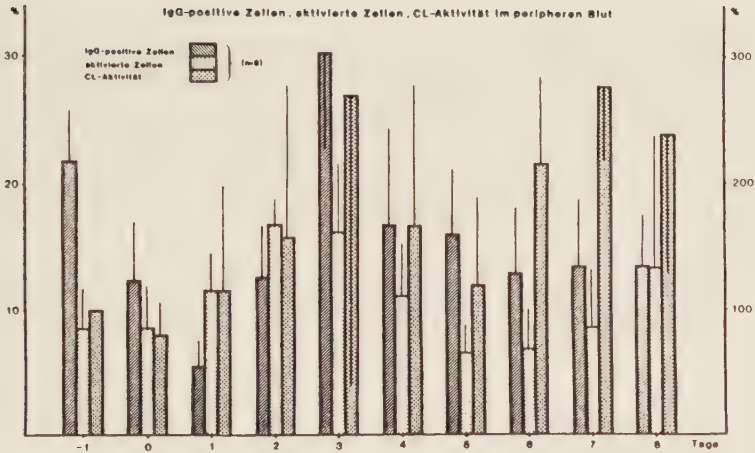


Abb.13: IgG-positive Zellen, aktivierte Zellen und Chemilumineszenzaktivität im peripheren Blut (n=6)

3.8. AUSGEWÄHLTE EINZELVERLÄUFE

In Abb.14a-16b sind die Verläufe von 3 langlebenden Tieren mit allen gemessenen Parametern vergleichend dargestellt. Dabei erhielt Hund C 5 eine niedrig dosierte (CSA+), Hund C 6 eine hochdosierte CSA-Monotherapie (CSA++). Hund M 5 gehörte der Gruppe CSA+MP an.

3.9. CSA-SERUMSPIEGEL

Bei den mit 9mg/kg KG CSA behandelten Versuchstieren wurden zu verschiedenen Zeitpunkten jeweils 24 Stunden nach Applikation von CSA die Serumspiegel bestimmt. Dabei ergab sich als Mittelwert aller gemessenen Proben: 215 + 158 ng/ml (n=43). Die Tiere die 20mg/kg/KG CSA erhielten, hatten ca. 14 Stunden nach der zweiten CSA-Gabe Serumspiegel um 750 + 706 ng/ml (n=23).

Die in der Literatur empfohlenen Serumspiegel bei Verwendung der RIA-Nachweismethode liegen zwischen 100 und 500 ng/ml (93).

3.10 PATHOLOGIE

Die Ergebnisse der Pathohistologie sind bereits übersichtsartig in Tab.3 aufgelistet. Eine Zusammenfassung der histologischen Befunde von 32 transplantierten Nieren zeigt:

<u>Nekrosen:</u>	In 13 Nieren, davon 5 hämorrhagische und 8 anämische Nekrosen
<u>CSA-Schäden:</u>	In 19 Nieren, also in allen nicht nekrotischen Nieren
<u>Zelluläre Infiltrate:</u>	In 23 Nieren, davon nur in 2 Nieren desselben Tieres stärker ausgeprägt.
<u>Humorale Reaktion:</u>	In 2 Nieren desselben Tieres jedoch nur diskrete Anzeichen bei anämischer Nekrose

Bei den an Abstoßung verstorbenen Tieren (n=8) lagen in 5 Fällen Nekrosen und in einem Fall eine Autolyse des Transplantats vor. In zwei Tieren war eine geringe in einem Tier eine stärkere zelluläre Infiltration zu sehen.

Häufig fanden sich grobschollige Verkalkungen in den Tubuli und teilweise auch im Zytoplasma der Epithelzellen. Die CSA-Schädigung stellte sich als Schwellung und meist grobe, unterschiedlich große Vacuolisierung der Tubuluszellen dar.

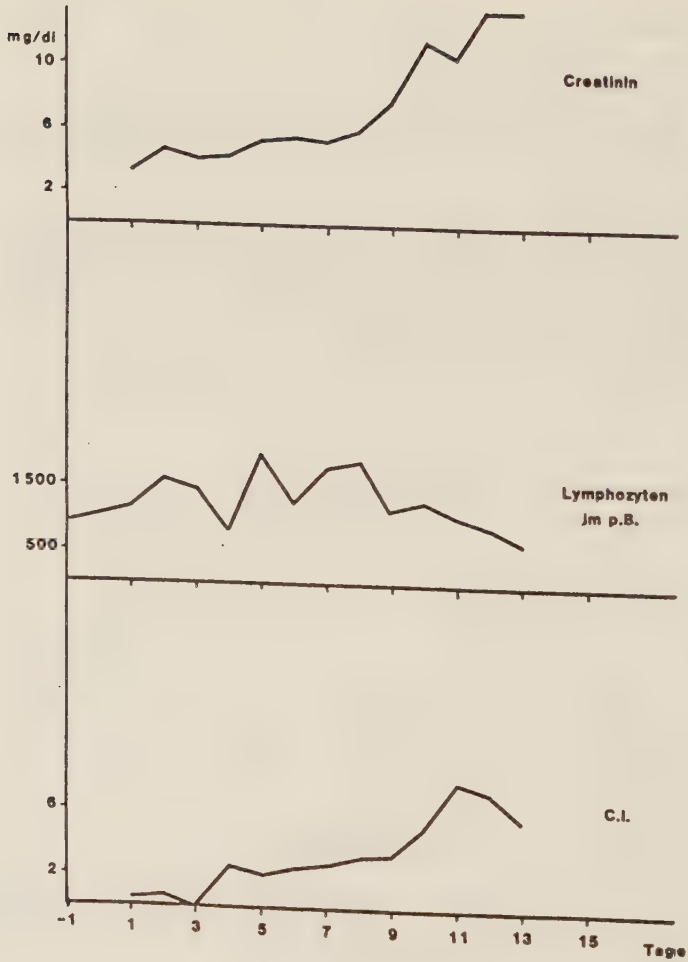


Abb.14: Kreatinin, absolute Lymphozytenzahl
und C.I. von Hund C5

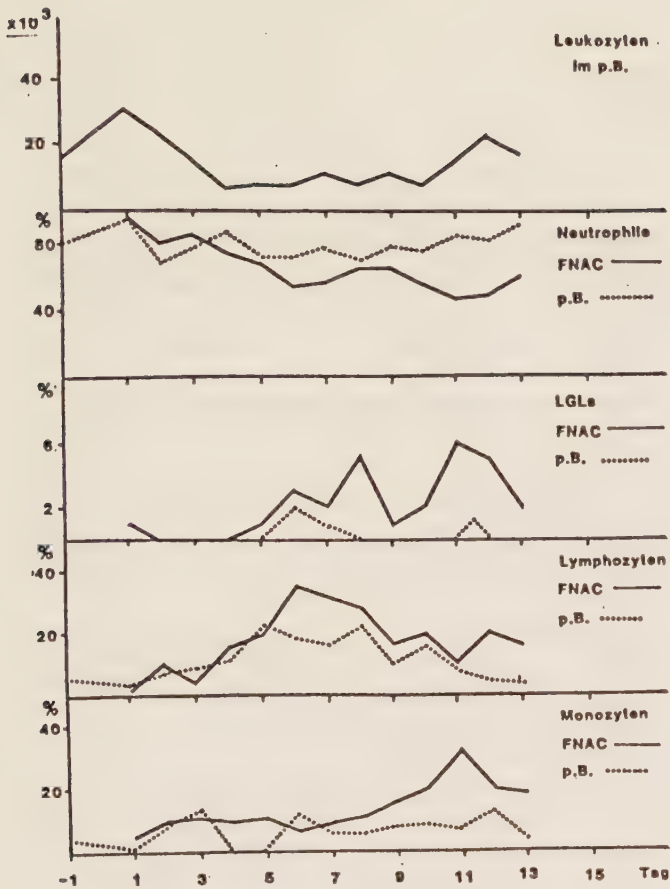


Abb.14b: Absolute Leukozytenzahl und prozentualer Anteil von Neutrophilen, LGLs, Lymphozyten und Monozyten in der Biopsie und im peripheren Blut von Hund C5

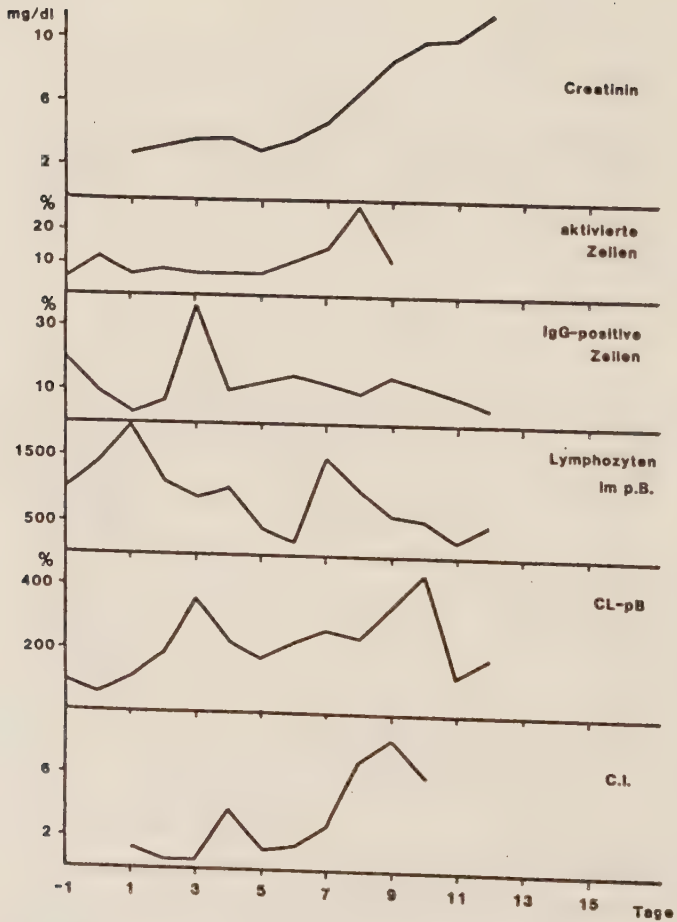


Abb.15a: Kreatinin, aktivierte Zellen, IgG-positive Zellen, absolute Lymphozytenzahl, CL im Vollblut und C.I. von Hund C6

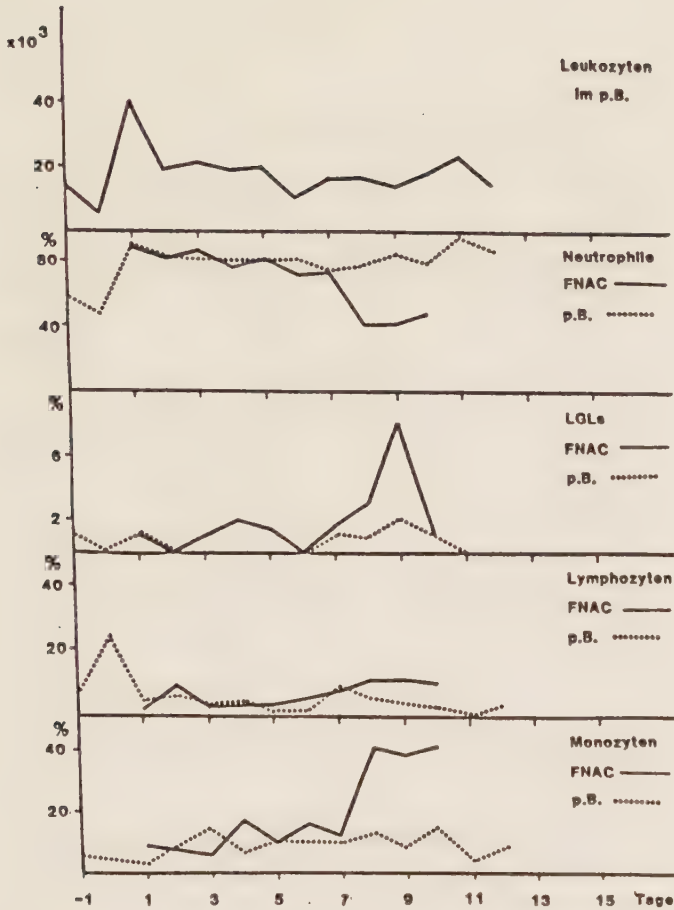


Abb.15b: Absolute Leukozytenzahl und prozentualer Anteil von Neutrophilen, LGLs, Lymphozyten und Monozyten in der Biopsie und im peripheren Blut von Hund C6

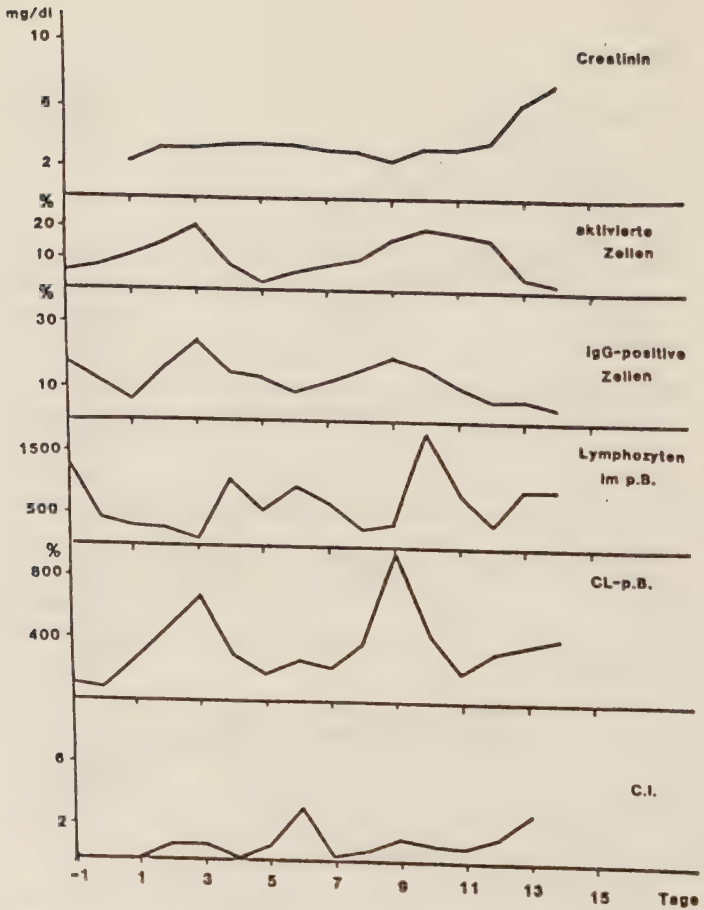


Abb.16a: Kreatinin, aktivierte Zellen, IgG positive Zellen, absolute Lymphozytenzahl, CL im Vollblut und C.I. von Hund M5

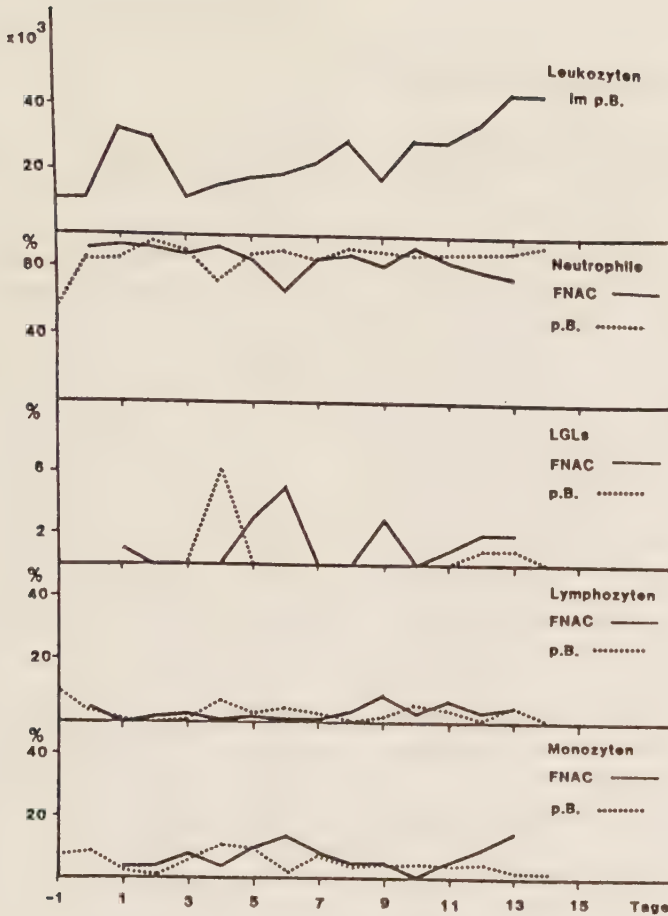


Abb.16b: Absolute Leukozytenzahl und prozentualer Anteil von Neutrophilen, LGLs, Lymphozyten und Monozyten in der Biopsie und im peripheren Blut von Hund M5

4. DISKUSSION

4.1 HISTORISCHER ÜBERBLICK

Erste wissenschaftliche Berichte über xenogene Transplantationen erscheinen Anfang des 20. Jahrhunderts. Eine nicht vollständige Auflistung bedeutsamer Versuche auf diesem Gebiet zeigt Tab.5. Nachdem Ullmann 1902 im Tierexperiment erstmals eine Ziegenniere auf einen Hund transplantiert hatte (164), anastomosierte Jaboulay 1906 in 2 Fällen eine Schweineniere mit den Cubitalgefäßen von menschlichen Patienten (82). Bereits 1905 hatte Princeteau versucht durch Einlegen von Gewebestückchen einer Kaninchenniere bei Nephrotomie das Leben eines an terminaler Niereninsuffizienz erkrankten Mädchens zu retten (132). 1910 berichtet Unger in der "Berliner klinischen Wochenschrift", über den Versuch der Verpflanzung beider Nieren eines Schweinsaffen auf ein 21-jähriges Mädchen (165). Auch in den folgenden Jahren wurden weitere tierexperimentelle Versuche unternommen (5). Erst 1964 wagt sich Starzl erneut an eine Nierenübertragung vom Affen auf den Menschen (156). Mit 6 transplantierten Paviannieren wurden Überlebenszeiten bis zu 60 Tagen erzielt. Transplantatüberlebenszeiten bis zu 6 Monaten kann Reemtsma im selben Jahr mit auf den Menschen übertragenen Schimpansennieren verzeichnen (138). Die meisten dieser Patienten sterben allerdings nicht an einer Transplantatabstoßung, sondern an einer Sepsis in Folge der radikalen Immunsuppression mit Azathioprin, Prednison, lokaler Transplantbestrahlung und Actinomycin (130).

Tab.5: Historischer Überblick
xenogener Transplantationen

AUTOR	JAHR	ORGAN	SPEZIES-KOMBINATION	LIT.
Ullmann	1902	Niere	Ziege/Hund	(165)
Princeteau	1905	Niere	Kaninchen/Mensch	(132)
Laboulay	1906	Niere	Schwein/Mensch	(82)
Wenger	1910	Niere	Affe/Mensch	(165)
Avramovici	1924	Niere	Katze/Hund	(5)
Starzl	1964	Niere/Leber	Pavian/Mensch	(156)
Reemtsma	1964	Niere	Schimpanse/Mensch	(138)
Hardy	1964	Herz	Schimpanse/Mensch	(67)
Perper	1966	Niere	Schaf/Ziege	(123)
Cooley	1968	Herz	Schaf/Mensch	(33)
Chaussy	1971	Niere	Katze/Hund	(31)
Hammer	1972	Niere	Schaf/Hund	(66)
Hammer	1973	Niere	Schwein/Hund	(64)
Hammer	1975	Niere	Fuchs/Hund	(63)
Hammer	1975	Niere	Wolf/Hund	(63)
Shons	1974	Niere	Schaf/Mensch	(153)
Kakita	1975	Herz	Hamster/Ratte	(86)
Kemp	1976	Niere	Kaninchen/Katze	(88)
Barnard	1977	Herz	Pavian/Mensch	(12)
Bailey	1984	Herz	Pavian/Mensch	(9)

1964 wird von Hardy erstmals ein Schimpansenherz auf den Menschen übertragen (67). 1969 beginnen am Institut für chirurgische Forschung der Universität München erste systematische Versuche über xenogene Transplantationen durch Hammer, Chaussy und Brendel (30, 31, 32, 62, 63, 64, 66). 1977 macht Barnard mit einem auf den Menschen transplantierten Pavianherz Schlagzeilen (12). Der jüngste Bericht einer xenogenen Organtransplantation auf den Menschen stammt vom 26. Oktober 1984, als Bailey in Loma Linda, Californien einem 2 Wochen alten Baby mit hypoplastischem linken Ventrikel das Herz eines 5 Jahre alten Pavianweibchens einpflanzt (7, 9). Dieses als Fall des Babys Fae in die Literatur eingegangene Transplantat, funktionierte 3 Wochen. Die letztgenannten Beispiele zeigen, daß xenogene Transplantationen nicht nur in der Forschung, sondern auch in der Klinik aktuell bleiben. Die kurzen Überlebenszeiten zeigen allerdings, daß die immunologischen Probleme noch nicht bewältigt sind. Doch gibt es zahlreiche neuere Publikationen, die sich mit tierexperimentellen Versuchen zur Verlängerung der Überlebenszeit xenogener Transplantate beschäftigen. Insbesondere seit Einführung von CSA und den guten Ergebnissen in allogenen Versuchsmodellen wurde diese Substanz auch in xenogenen Systemen getestet. Green et al. (54) berichtet über Nierentransplantationen von Hasen auf Kaninchen unter CSA-Therapie. Homan et al. (78) und Sugimoto et al. (161) transplantierten Hamster- bzw. Mäuseherzen auf Ratten. Die Ergebnisse sind dabei nicht einheitlich: Während in einigen Modellen die Überlebenszeit deutlich gesteigert werden konnte, ist der CSA-Effekt in Anderen eher mäßig. Die im Versuchsmodell Fuchs-Hund bisher ermittelten Ergebnisse sind bereits im Ergebnisteil, vergleiche Tab.4 dargestellt.

4.2 ZU MATERIAL UND METHODEN

4.2.1 Versuchsmodell Fuchs-Hund

Durch die in dieser Arbeit verwendete, nah-verwandte Spezieskombination ist die vorliegende Transplantation als konkordante Xenotransplantation zu bezeichnen (25). Bei dieser Art von Transplantation können keine präformierten Antikörper nachgewiesen werden (23, 30, 32, 62, 63, 69, 89, 91, 103). Somit stellt sie eine günstige Voraussetzung innerhalb xenogener Transplantationssysteme dar (23, 30, 32, 62, 63, 69, 89, 91, 103), da im Gegensatz dazu "cross-family" - oder "cross-order" - Transplantationen, die auch als diskordante Xenotransplantationen bezeichnet werden (25) zu einer hyperakuten Abstoßungsreaktion führen, deren Verlauf durch herkömmliche Immunsuppressiva kaum zu beeinflussen ist (23, 69, 89, 103, 122).

Es besteht eine gute Übereinstimmung zwischen der Überlebenszeit der Transplantate und dem Grad der zoologischen Verwandtschaft (23, 69, 89, 103). Dabei kommt den präformierten natürlichen Antikörpern (PNAK) eine bedeutende Rolle zu: je weiter entfernt die zoologische Verwandtschaft der Transplantationspartner ist, desto höher ist der Titer an PNAK und um so schneller erfolgt die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR) (23, 62, 69, 103). Tab.6 zeigt die Überlebenszeiten in verschiedenen Spezieskombinationen.

Tabl.6: Abhängigkeit der Transplantatüberlebenszeit
vom phylogenetischen Verwandtschaftsgrad
der Transplantationspartner

ORGAN	SPEZIES-SYSTEM	SVT	AUTOR/JAHR	LIT.
Niere	Schwein/Hund	15-30 min.	Hammer/1973	(64)
Niere	Schaf/Hund	30min.	Hammer/1972	(66)
Niere	Katze/Hund	15-24 h	Chaussy/1971	(31)
Niere	Fuchs/Hund	6,5 d	Hammer/1975	(63)
Niere	Hund/Hund	8-10 d	Chaussy/1975	(32)
Niere	Wolf/Hund	19,1 d	Hammer/1975	(63)

Daraus ergibt sich, daß diskordante Xenotransplante vorwiegend und zumindest initial durch humorale Mechanismen abgestoßen werden. Dabei wurden auch zelluläre Elemente, allerdings unspezifischer Art (Thrombozyten, Leukozyten) nachgewiesen die sekundär eine Rolle spielen (103).

Für konkordante Xenotransplantate gilt, daß sie sich ähnlich wie Allotransplantate verhalten, d.h. vorwiegend zelluläre Abstoßungsmechanismen induzieren (23, 25, 89, 103, 123). Beruhend auf diesen Beobachtungen bot sich das gewählte Modell an:

1. Es konnte die Wirksamkeit von CSA, die im allogenen Modell bereits zu erheblichen Verbesserungen der Transplantatüberlebenszeit geführt hat auch in einem xenogenen Modell mit vergleichbarer Abstoßungsreaktion getestet werden.

2. Fuchs und Hund sind als intrafamiliäre Kombination vom zoologischen Verwandtschaftsgrad vergleichbar mit der Spezieskombination Schimpanse-Mensch. Damit ist eventuell eine Übertragbarkeit auf klinische Bedingungen gegeben.

Bezüglich der Histokompatibilität bestehen zwischen Fuchs und Hund geringfügige Unterschiede (63), ähnlich wie zwischen Schimpanse und Mensch (25). Auch die Erythrozytenantigene sind teilweise identisch: Zwischen Fuchs und Hund stimmen zwei der mit den gleichen Seren getesteten Erythrozytenantigene überein (63). Schimpansen besitzen ebenfalls zwei Blutgruppen (A und O), die mit den menschlichen identisch sind (173). Das Isoenzymmuster ist ebenfalls größtenteils identisch. Hammer et al. (63) zeigte, daß die elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeiten der Adenylkinase, 6-Phosphoglucohydrogenase und Adenosindeaminase von Fuchs und Hund gleich sind. Ähnliches trifft für die Mehrzahl der Enzyme des Schimpansen im Vergleich zu denen des Menschen zu (95). Auch die

Chromosomenanalyse erlaubt eine gewisse Analogie:

Der diploide Chromosomensatz des Hundes beträgt 78. Bei Füchsen variiert die Zahl zwischen 34 und 40 ($2n$), wobei 38 ($2n$) am häufigsten genannt wird (63). Der Schimpanse mit 48 Chromosomen ($2n$) unterscheidet sich vom Menschen ($46=2n$) nur um ein Chromosomenpaar.

Diese geringen Differenzen beweisen die enge genetische Verwandtschaft zwischen Fuchs und Hund. Die Vergleichbarkeit der Unterschiede Fuchs-Hund, Schimpanse-Mensch lassen es als geeignetes Versuchsmodell für eine Übertragung der Ergebnisse in die Klinik erscheinen.

3. Das Modell Fuchs-Hund ist mit herkömmlichen Immunsuppressiva (ALG, AMS) bzw. ohne Immunsuppression bereits getestet (vergl. Tab.4). Somit läßt sich die Wirkung von CSA gut mit bisherigen Immunsuppressiva vergleichen.

4.2.2 Feinnadelaspirationszytologie

Die Technik der Feinnadelaspirationszytologie (FNAC) hat sich in der tierexperimentellen Forschung (22, 50, 84) als auch in der Klinik (56, 57, 65) als brauchbares Verfahren zur Erkennung akuter zellulärer Abstoßungsreaktion erwiesen. Im Tierexperiment wurden bisher sowohl allogene (22, 84), als auch semi-xenogene Modelle (50), die sich in ihrer Überlebenszeit noch überlegen zeigen untersucht.

Erstmals wurden konkordant xenogene Transplantate durch FNAC untersucht. Dabei bietet diese komplikationsarme Methode mit der histologischen Abstoßungsdiagnostik aus Stanzbiopsien vergleichbare Ergebnisse (98). Letzteres Verfahren wäre bei den vergleichsweise kleinen Fuchsnieren kaum durchführbar gewesen bzw. hätte unter keinen Umständen täglich und beidseitig durchgeführt werden können. Mit FNAC war eine Verlaufskontrolle der zellulären Fluktuation im xenogenen Transplantat möglich. Dabei wurden eventuelle Fehlerquellen die sich durch eine mögliche Blutkontamination, bzw. nicht getroffenes Nierengewebe ergeben, möglichst gering gehalten.

Auf Grund von Beobachtungen beim Menschen gelangten nur Biopsien mit mehr als 5 Parenchymzellen/ 100 Leukozyten zur Auswertung. Bei der Auswertung wurden außer dem Gesamt-Corrected-Increment auch die Einzelinkremente aus Lymphozyten und Monozyten dargestellt. Diese sind quantitativ die wichtigsten in das Transplant einwandernden Zellen.

4.2.3 IgG positive Zellen

Die Technik der direkten Immunfluoreszenzmarkierung wurde zur Kennzeichnung von IgG positiven, d.h. IgG-Moleküle an ihrer Oberfläche tragenden Zellen, benutzt. Der verwendete Anti-Hunde-IgG- Antikörper war an Fluoreszein gekoppelt und durch Sensibilisierung von Kaninchen mit Hunde-Immunglobulin G gewonnen worden (80). Dieser Antikörper bindet sich vorwiegend an die Oberflächenglobuline von B-Lymphozyten, die an ihrer Oberfläche IgA-, IgD- und IgG-Moleküle tragen (159, 167). Dabei sind jedoch in der Literatur Fälle beschrieben bei denen er über das Fc-Ende teilweise Monozyten, aktivierte Lymphozyten und auch Granulozyten markiert (36, 80, 101, 108, 131). Letztere fallen jedoch bei der im mononukleären Zellkonzentrat durchgeführten Technik kaum ins Gewicht. Der Versuchsablauf und insbesondere die Inkubationszeit wurde dabei in Kälte (4° C) durchgeführt, um eine Pinozytose der auf der Lymphozytenoberfläche fluktuierenden Antikörpermoleküle ins Zellinnere zu vermeiden. Bei den positiven Zellen war dann unter dem Mikroskop eine ringförmige Fluoreszenz sichtbar (16).

4.2.4 Aktivierte Zellen im mononukleären Konzentrat

Die Beurteilung aktiverter Zellformen (Lymphoblasten, aktivierte Lymphozyten) im mononukleären Konzentrat (MNK) ist als zytoimmunologisches Monitoring (ZIM) beschrieben worden (41, 42, 43). Dabei zeigte sich sowohl in der Klinik als auch im Tierexperiment eine Überlegenheit gegenüber anderen Verfahren zur Abstoßungsdiagnostik. Diese Untersuchungen wurden jeweils an herztransplantierten Patienten bzw. Tieren

unternommen und zeigten Ergebnisse, die gut mit der histologischen Abstoßungsdiagnose durch Endomyokardbiopsie korrelierten.

Deshalb wurde dieses Verfahren bei einigen Tieren zusätzlich durchgeführt. Insbesondere da mit Hilfe der FNAC nur geringe zelluläre Veränderungen registriert werden konnten, denn Ertel et al. (41, 43) beobachtet auch bei humoralen Abstoßungskrisen eine Aktivierung des MNK. Das Verfahren ist ausführlich an anderer Stelle von den Erstbeschreibern (42, 43) diskutiert worden. Es beruht auf der zytologischen Differenzierung von Lymphozyten bzw. ihren aktivierten Formen. Dabei wurde die Proliferation von Lymphozyten bereits mit anderen Methoden gemessen (29). Zum Beispiel wurde bereits der Tymidineinbau in periphere Lymphozyten nach Antigenstimulation gemessen ("reaktive Lymphozytenblastogenese") (109). Das ZIM registriert dabei nicht die funktionellen Veränderungen, die mit der Lymphozytenproliferation einhergehen, sondern vielmehr die morphologischen Veränderungen die aus der Funktionsänderung resultieren. Es ist leicht einzusehen, daß eine zytologisch-morphologische Veränderung einfacher zu registrieren ist als die Quantifizierung funktioneller Parameter.

4.2.5 Chemilumineszenz

Die immunologische Überwachung nach Transplantationen konzentrierte sich bis vor kurzem vorwiegend auf Lymphozyten und ihre Subpopulationen (37, 85, 134). Dabei kommt in letzter Zeit der Phagozytenfunktion des peripheren Blutes besonderes Interesse zu. So beschäftigen sich einige neuere Arbeiten (71, 143, 144, 145, 149, 150) mit der Messung der Phagozytose-assoziierten Chemilumineszenz nach Nierentransplantation.

Der Begriff Chemilumineszenz wurde geprägt für die Produktion der geringen elektromagnetischen Strahlung, die bei der

Partikelaufnahme phagozytisch aktiver Zellen frei wird (38). Ausgehend von der Beobachtung, daß Hundegranulozyten während der Phagozytose einen deutlich erhöhten Sauerstoffverbrauch zeigen, wurde dieses Phänomen als extramitochondriales System der Erzeugung mikrobizider, reaktiver Sauerstoffspezies identifiziert. Dieses, später als "respiratory burst" bezeichnete Phänomen wurde durch Beschreibung der nativen und insbesondere der luminol- und lucigenin-verstärkten Chemilumineszenz durch Allen et al. (1, 2, 3) zu einem empfindlichen Meßverfahren für diese Teilfunktion von Phagozyten ausgebaut. Beim Zurückfallen in den Ausgangszustand setzen die kurzlebigen, energiereichen Verbindungen Photonen frei, die mit Photomultipliern gemessen werden können. Der Vorgang des "respiratory burst" ist allerdings unabhängig von der Partikelaufnahme und setzt bereits bei Kontakten mit der Phagozytenzellmembran ein. Deshalb wird der gemessene Vorgang auch als Phagozytose-assoziierte Chemilumineszenz bezeichnet. In dieser Arbeit wurde Luminol als Verstärkersubstanz gewählt. Luminol erhöht die Lichtausbeute der nativen Chemilumineszenz um ein vielfaches und ermöglicht die Messung in kleinsten Zellmengen (2, 3).

Die Luminol-verstärkte Chemilumineszenz beruht auf einer Myeloperoxydase-abhängigen Reaktion, deren wesentliche Produkte Wasserstoffperoxid und HOCL sind (1). Bei der Messung im Vollblut müssen meßtechnische Ungenauigkeiten durch Hämoglobinquench, Serumproteine und wechselnde Thrombozytenzahl (72, 87, 136) durch entsprechende Verdünnung reduziert werden. Die Vollblutmessung ist zwar einfach durchzuführen und bietet physiologische Bedingungen, jedoch können Einflüsse von Serumbestandteilen wie Komplementfaktoren, Arachnidonsäuremetaboliten und verschiedener Hormone nicht unterschieden werden. Deshalb wurde zusätzlich eine gereinigte Granulozytenpopulation gemessen, die durch Dichtegradientenzentrifugation gewonnen

wurde. Als Stimulus wurde Zymosan, ein Homogenat aus Hefezellwänden, das jeweils mit autologem Serum opsoniert wurde, verwendet. Es aktiviert den alternativen Komplementweg und bindet bei der Opsonierung C3b. Es wird von Granulozyten und Monozyten-Makrophagen phagozytiert (38). Dabei ist die Rezeptorbindung das Signal für die Phagozytose und den "respiratory burst". Um einen möglichen Einfluß der Opsonierungsfähigkeit des jeweils gemessenen Blutes auszuschließen, wurde nur autolog voropsoniertes Zymosan verwendet.

4.3 ÜBERLEBENSZEITEN IM VERGLEICH

Die Überlebenszeiten allogener Nierentransplantate beim Hund beträgt ohne immunsuppressive Therapie 5-9 Tage (32). Im xenogenen Modell Fuchs-Bastardhund wird ohne immunsuppressive Therapie eine mittlere Überlebenszeit von $6,5 \pm 0,4$ erreicht (148). Diese liegt etwa im Bereich der Überlebenszeiten allogener Transplantate. Mit ALG als Immunsuppressivum konnte eine mittlere Überlebenszeit von $13,4 \pm 1,0$ Tagen, mit AMS von $15,8 \pm 0,7$ Tagen erzielt werden (148). Die Kombinationstherapie von ALG und AMS verlängerte die Überlebenszeit weiter auf $17,7 \pm 0,9$ Tage (128). Durch Therapie mit ALG, Vorbehandlung mit Pferdeimmunglobulin und zusätzlicher Prednisolongabe konnte Roscher (139) die Überlebenszeit auf $20,1 \pm 4,6$ Tage steigern. Die präoperative Therapie der Empfänger mit Fuchserythrozyten brachte nicht den gewünschten Erfolg: Die Überlebenszeit mit $14,3 \pm 2,8$ ist lediglich der Wirkung des zusätzlich verwendeten ALGs zuzuschreiben (99). Vergleicht man nun diese Ergebnisse mit den CSA therapierten Tieren, so zeigt sich, daß CSA mit $10,9 \pm 3,0$ Tagen die geringste Verbesserung der Überlebenszeit bewirkt.

4.4 ZELLFLUKTUATIONEN IM VERGLEICH

4.4.1 Zellfluktuationen im Transplantat

Bei der Auswertung der FNB sind einige Auffälligkeiten erkennbar:

Erstens steigt das C.I. postoperativ in beiden Gruppen nur gering an und erreicht nur bei den 3 langlebenden Tieren der CSA-Monotherapie-Gruppe (Gruppe C) präfinal Werte bis 8. Dabei sind die Ergebnisse aus Gruppe M (CSA + MP) noch geringer und steigen auch bei dem langlebenden Tier dieser Gruppe präfinal nicht an. Im allogenen System (50) wurden erst Inkrementwerte über 5 als beginnendes Abstoßungsstadium bezeichnet (vergl.Kap.2.9.3). Im semi-xenogenen Modell Wolf-Hund sind unter CSA-Therapie bereits in den ersten Tagen und auch im weiteren Verlauf deutlich höhere Inkrementwerte registriert worden. Dies läßt den Schluß zu, daß im vorliegenden Fall weniger Leukozyten in das Transplantat eingewandert sind. Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen: Entweder die Abstoßung erfolgt in diesem Modell vorwiegend humoral oder die Therapie verhindert das Einwandern von Zellen ins Transplantat. In den Kontrollversuchen (ohne Immunsuppression) sah Scheel (148) histologisch ab dem 4. Tag eine starke Infiltration lymphoider Zellen in das Transplantat. Bei der guten Übereinstimmung zwischen Histologie und FNAC (98) hätte die Infiltration auch in diesem Versuch nachweisbar sein müssen. Die deutliche Verminderung läßt sich also auf die immunsuppressive Therapie zurückführen.

Bis heute herrscht die Einsicht vor, daß konkordant-xenogene Transplantate ähnlich wie Allotransplantate, also vorwiegend zellulär abgestoßen werden (23, 123). Dies scheint sich auch in unbehandelten Versuchstieren zu bestätigen (48, 54, 78, 148). Jedoch scheint im vorliegenden Fall der zelluläre Effektorarm wirksam unterdrückt worden zu sein (12). Abb.17 zeigt die zu Grunde liegenden Abstoßungsmechanismen bei verschiedenen Transplantationspartnern.

Grundsätzlich sind bei jeder Art von Abstoßung zelluläre und humorale Immunreaktionen beteiligt (27, 120, 121, 129, 160, 174), allerdings mit jeweils unterschiedlicher Gewichtung.

Im Modell Fuchs-Hund ist eine primär zelluläre Reaktion denkbar die jedoch in dieser Untersuchung durch CSA bzw. CSA + MP wirksam unterdrückt wurde. Möglicherweise wurden die Effektormechanismen stärker auf den humoralen Schenkel der Immunantwort verlagert (121). Dabei ist die zelluläre Reaktion durch zusätzliche Kortisontherapie noch stärker supprimiert worden (76).

Zuletzt bleibt noch der präfinale Inkrementanstieg der drei Tiere der Gruppe C zu erklären. Beim Betrachten der Einzelinkrementwerte zeigt sich, daß der erhöhte Wert hauptsächlich durch einwandernde Monozyten bedingt ist und weniger durch Lymphozyten bzw. aktivierte Zellen. Dies läßt sich in Richtung einer unspezifischen Abräumfunktion interpretieren. Es handelt sich um ein beim Hund bekanntes Phänomen (22, 84).

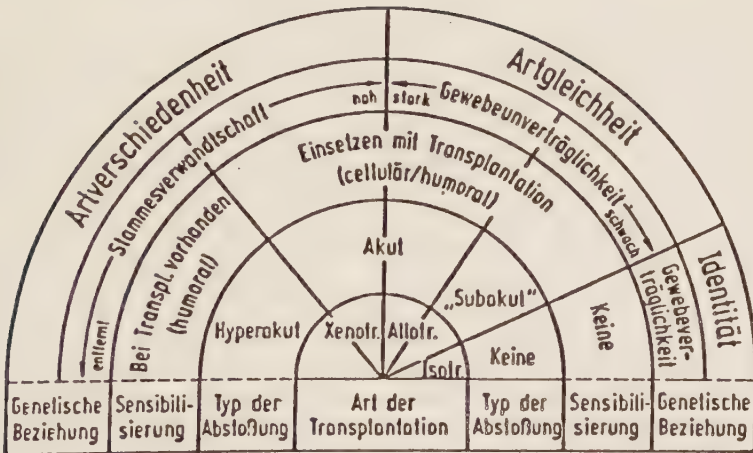


Abb.17: Aus W. Land (103):

Typ der Transplantatabstoßung in Abhängigkeit vom genetischen Spender-Empfänger-Verhältnis. Wachsende Heftigkeit der Abstoßungsreaktion bei zunehmender genetischer Disparität von Spender und Empfänger.

(Xenotr. = Xenotransplantation

Allootr. = Allotransplantation

Isotr. = Isotransplantation)

4.4.2 Zellfluktuationen im peripheren Blut

Ebenso wie in den Biopsiepräparaten sind die Zellfluktuationen im peripheren Blut bei den zusätzlich mit Methylprednisolon behandelten Tiere deutlich supprimiert. Das Auftreten einer Granulozytose und einer relativen Lymphopenie ist ein bekannter Effekt der Glucokorticoide (56, 159) und läßt sich auch in diesem Versuch bestätigen.

Der frühe postoperative Lymphozytenanstieg in beiden Gruppen ist als Hinweis auf die antigene Stimulierung durch die Transplantate zu werten, während die postoperative Zunahme der Anzahl polymorphkerniger Granulozyten möglicherweise einen posttraumatischen Operationseffekt darstellt. In den meisten Einzelverläufen wird ein zweiter Lymphozytenanstieg in der ersten Woche sichtbar. Dieser markiert mit großer Wahrscheinlichkeit eine zweite Abstoßungsreaktion.

Die leichte Erhöhung der Monozytenzahlen in den ersten Tagen nach der Transplantation ist auf ihre Beteiligung an der Antigenpräsentation zurückzuführen (27, 160). Bei den Tieren mit vorwiegend durch Monozyten bedingten, präfinal erhöhten Inkrementwerte geht eine leichte Zunahme der Monozytenzahlen im peripheren Blut einher. Dies deutet eine generelle Stimulierung des Monozyten- Makrophagen-Systems mit Ausschwemmung aus den Speichern und gesteigerter Myelopoese an.

4.4.3 Mononukleäres Konzentrat

Die Auswertung der aktivierten Zellformen im mononukleären Konzentrat ist an anderer Stelle ausführlich beschrieben (41, 42, 43). Die deutliche Erhöhung am 2. und 3. postoperativen Tag spricht für eine frühe Aktivierung des Immunsystems. Die gemessene Erhöhung lag jedoch niedriger als bei der heterotopen Herztransplantation im selbem Versuchsmodell (43). Es wird vermutet (61), daß bei Nierentransplantationen

ein Großteil der aktivierten Zellen durch die Nieren ausgewaschen wird und im Harn erscheint. Hier bietet sich die Möglichkeit, Abstoßungsreaktion eventuell durch die im Harnsediment enthaltenen Zellen zu diagnostizieren. Entsprechende klinische Untersuchungen sind beschrieben.

4.4.4 IgG-positive Zellen

In der Literatur ist bisher nicht eindeutig geklärt, welche Leukozytensubpopulation mit Antikörpern gegen Immunglobuline markiert werden kann. Einige Autoren betrachten nur B-Lymphozyten als Immunglobulin tragende Zellen (133, 167). Andere wiederum konnten Immunglobuline auch an der Oberfläche aktivierter T-Zellen nachweisen (108). Preud' Homme (131) und Kumagai (101) konnten auch Monozyten und Makrophagen als Immunglobulin G-tragende Zellen identifizieren, die den Antikörper mittels Fc-Rezeptor gebunden hatten. Es ist allgemein anerkannt, daß B-Lymphozyten vorwiegend Oberflächenimmunglobuline vom Typ G tragen. Ob auch Monozyten, Makrophagen oder aktivierte T-Lymphozyten Immunglobuline auf ihrer Oberfläche besitzen bleibt weiterhin ungeklärt. In dieser Arbeit wird deshalb nicht von IgG positiven B-Lymphozyten, sondern allgemein von IgG positiven Zellen gesprochen.

Vorausgesetzt, daß durch die Markierung vorwiegend B-Lymphozyten gekennzeichnet werden, bedeutet die statistisch signifikante Zunahme am 3. postoperativen Tag eine frühe Steigerung der B-Zellzahl. Ob diese Zellen bereits einer stimulierten Proliferation entstammen oder aus den B-Zell-Ruhezonen des lymphatischen Apparates resultieren ist nicht eindeutig zu beantworten. Nur in einem Fall konnte ein zweiter, deutlicher Anstieg in der 2. postoperativen Woche gemessen werden.

4.5 CHEMILUMINESZENZ UND ABSTOßUNG

Einige neuere Untersuchungen beschäftigen sich mit der Chemilumineszenzmessung nach Nierentransplantation:

Schödel et al. (149, 180) mißt unter anderem die Luminol-verstärkte Chemilumineszenz bei unbehandelter Nierentransplantation im allogenen Hundeversuch. Die Messung im Vollblut ergab erhöhte postoperative Werte. Diese waren jedoch statistisch nicht zu belegen. Die Aktivität separierter Granulozyten war während der fortgeschrittenen Abstoßung am Tag 6 und 7 statistisch signifikant erhöht (150).

Heberer et al. zeigt einen Zusammenhang zwischen erhöhter Chemilumineszenzaktivität im Vollblut und Abstoßungskrisen nierentransplanterter Patienten (71). Die jeweils benutzten Meßverfahren werden dabei nicht näher erläutert.

Rush et al. (143, 144) untersuchte die IgG-Aggregat- und Zymosan-induzierte, Luminol-verstärkte Chemilumineszenz von mononukleären Zellen und Granulozyten bei nierentransplantierten Patienten. Dabei stellte er eine erhöhte IgG-induzierte Aktivität von mononukleären Zellen nierentransplanterter und immunsupprimierter Patienten fest. Diese Arbeit bestätigt ebenso wie andere Untersuchungen (81, 94), daß die Chemilumineszenzaktivität durch basale Immunsuppression nicht verändert wird. Auch CSA und Methylprednisolon beeinflussen die Phagozytenfunktion scheinbar nicht (51, 83).

Die in dieser Arbeit gemessene statistisch signifikante Erhöhung der Werte im verdünnten Vollblut am 3. Tag korreliert gut mit der Zunahme IgG positiver und aktivierter Zellen im mononukleären Konzentrat. Das zweite Maximum zwischen Tag 6 und 8 stimmt mit dem von Schödel gemessenen Werten überein. Allerdings konnte er statistische Signifikanz nur an der separierten Granulozytenpopulation erkennen. Im Gegensatz dazu blieben die Mittelwerte der separierten Granulozyten in dieser Arbeit während der gesamten

postoperativen Meßdauer auf ca. 200% des Ausgangswertes. Schödel et al. (49, 50) diskutiert die Modulation der "respiratory burst" Aktivität als Einfluß der bei der Immunantwort freigesetzten Mediatoren, wie Interleukin 2 (IL-2), Gamma Interferon (-IF) und chemotaktischer Faktoren wie Komplement C5a oder Leukotrien B4. Als weitere Möglichkeit kommt als systemische Antwort die Steigerung der Myelopoese durch "colony stimulating factor" (CSF) aus T-Lymphozyten in Frage. In diesem Fall wären die neu zirkulierenden Zellen aus der stimulierten Granulopoese für die Steigerung der "respiratory burst" Aktivität verantwortlich (49, 50).

4.6 CSA-WIRKUNG UND ABSTOßUNG

CSA wurde 1970 in den Sandoz-Laboratorien in Basel bei der Suche nach Pilz-Stoffwechsel-Produkten mit antibiotischer Aktivität entdeckt (20, 21). Das Stoffwechselprodukt des Bodenpilzes *Trichoderma polysporum*, neuerdings *Tolypocladium inflatum* gams ist ein zyklisches Polypeptid, bestehend aus 11 Aminosäuren. Es wirkt in allen bisher getesteten Spezies immunsuppressiv auf T-Zellen, bei geringer Wirksamkeit auf B-Zellen und äußerst geringen Nebenwirkungen auf das Knochenmark (19, 20, 21, 171). Mit dieser hohen Spezifität und geringen Toxizität stellt es unter den Immunsuppressiva ein wirkliches Novum dar.

Den genauen Wirkungsmechanismus stellt man sich folgendermaßen vor (14, 20, 26, 92, 168, 169, 171):

1. CSA blockiert das Interleukin-2 (IL-2) abhängige T-Zellwachstum durch Inhibition der Transkription der für den T-Zellwachstumsfaktor IL-2 kodierenden messenger-RNA (mRNA). Damit wird, allerdings nur in noch nicht aktivierten T-Helferzellen die Bildung des T-Zellwachstumsfaktors IL-2 unterbunden und das durch IL-2 vermittelte Wachstum klonierter zytolytischer T-Effektorzellen inhibiert. Dies ist der zur Zeit am besten charakterisierte Angriffspunkt,

insbesondere, da das Interleukin-Konzept der T-T-Zellinteraktion dem IL-2 eine zentrale Rolle bei der klonalen Expansion zytolytischer Effektorzellen und von T-Helferzellen einräumt. Eine neuere Arbeit (137) belegt die zusätzliche Reduktion von IL-2 Rezeptoren in sensitiven T-Zellen. Dieser Mechanismus ist allerdings noch nicht einheitlich bestätigt.

2. Ein weiteres Wirkungsprinzip ist die indirekte Inhibition von Makrophagen. Diese erfolgt möglicherweise über den Makrophagen-aktivierenden Mediator "colony stimulating factor" (CSF) durch T-Inducer-Zellen. Dadurch wird das Makrophagenprodukt Interleukin-1 (IL-1), das als Zweitsignal für die Aktivierung von T-Helferzellen wichtig ist, blockiert. Allerdings scheint nur die T-inducerzell-abhängige IL-1-Sekretion der Makrophagen CSA-sensitiv zu sein, während die durch Phagozytose oder Lipopolysaccharide (LPS) induzierte IL-1-Produktion nicht beeinflußt wird.

3. CSA blockiert die Freisetzung von Gamma-Interferon durch T-Zellen. Damit wird die Gamma-Interferon-abhängige Aktivierung von "natural killer-Zellen" (NK-Zellen) beeinträchtigt.

4. Die CSA-Wirkung auf B-Zellen ist nicht klar. Bis vor kurzem ging man davon aus (14, 52), daß B-Zellen durch CSA nur indirekt, d.h. bei Stimulation durch Thymus-abhängige, also durch T-Helferzellen vermittelte Reaktionen beeinflußt werden. Neuere Untersuchungen zeigen allerdings (96, 102), daß auch bei der direkten, d.h. T-Zell-unabhängigen B-Zellaktivierung zwei unterschiedliche Mechanismen wirksam sind, die sich durch ihre CSA-Sensitivität unterscheiden. Die direkte Aktivierung von B-Zellen durch Thymus Independent-2 (TI-2) Antigene wie Anti-Ig-Antikörper, die zu einer polyklonalen B-Zellstimulation führt ist CSA sensitiv. Die Thymus Independent-1-Antigen (TI-1) abhängige Stimulierung durch LPS ist dagegen mit CSA nicht hemmbar. Dies zeigt, daß auch eine differenzierte Wirkung durch B-Zellen vorhanden ist.

Es stellt sich nun die Frage, warum CSA bzw. CSA + MP im vorliegenden Versuchsmodell die Überlebenszeit nicht erheblich verlängern konnte.

In Frage kommen:

1. Ein niedriger, bisher nicht gemessener Titer an präformierten natürlichen Antikörpern (PNAK) gegen Fuchsgewebe der in den Empfängertieren zirkuliert und zu einer langsamen Zerstörung des Transplantats führt. Dagegen spricht allerdings die deutliche Verlängerung der Überlebenszeit mit ALG oder AMS (128, 139, 148).

2. Die Immunsuppression ist nicht ausreichend. CSA ist in Dosierung und Serumspiegeln mit allogenen Modellen vergleichbar, bei denen die Abstoßungsreaktion wirksam unterdrückt werden kann. Auch die mit 20mg/kg KG CSA therapierten Tiere lebten nicht länger. Dieser Befund ist allerdings angesichts der geringen Stückzahlen vorsichtig zu interpretieren.

Untersucher, die bisher CSA im konkordant-xenogenen System anwenden, kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen:

Ertel et al.(43) konnte ebenfalls im Modell Fuchs-Hund die Überlebenszeit heterotoper Herztransplantate um 124% verlängern.

Homan et al.(78) kann die Funktionszeit von auf Ratten transplantierten Hamsterherzen auf 21 Tage steigern. Allerdings bei einer bereits toxischen Dosierung von 35mg/kg KG CSA täglich.

Mit Nierentransplantationen von Hasen auf Kaninchen kann Green et al.(54) einen deutlichen Effekt von CSA zeigen. In einer Dosierung von 15mg/kg KG täglich erreicht er eine mittlere Überlebenszeit von 59,5 Tagen.

Sugimoto et al. (161) kann dagegen die Überlebenszeit von Ratten auf Mäuse transplantierten Herzen mit 20mg/kg KG CSA

täglich nur gering von 5 auf 14,4 Tage steigern. Dies ist eine nur geringe Verbesserung im Vergleich zur Therapie mit ATG im selben Modell.

Grundsätzlich muß man unterscheiden zwischen behandelter und unbehandelter konkordant-xenogener Abstoßungsreaktion. In den Kontrollversuchen ist histologisch ab dem 4. postoperativen Tag eine starke Infiltration lymphoider Zellen (148), ähnlich wie bei Nierentransplantationen im allogenen Hundemodell (50) nachgewiesen. Dagegen tritt in immunsuppressiv behandelten Tieren eine Verzögerung und Verminderung der zellulären Infiltration ein. Diese Beobachtung machen übereinstimmend Scheel (148) mit ALG- und AMS-Therapie, Pongratz (128) mit der Kombination von ALG und AMS und Roscher (139) mit ALG und Prednison. Auch in vorliegender Studie kann diese Beobachtung mittels FNAC bestätigt werden. Im allogenen Modell wurde diese Beobachtung unter CSA-Therapie ebenfalls deutlich (50, 84). Folglich wird die unbehandelte konkordant xenogene Abstoßungsreaktion, die histologisch ähnlich verläuft wie die akute Abstoßung im allogenen Modell, durch die Immunsuppression moduliert (121). Das geringe Auftreten von lymphoiden Zellen und Monozyten in den Xenotransplantaten, die aber dennoch bis zum 15. Tag abgestoßen werden, macht die Aktivierung humoraler Mechanismen in diesem Modell mit starker genetischer Disparität denkbar.

Die Beteiligung humoraler Antikörper ist auch bei allogenen Transplantationen unbestritten, wobei sie jedoch nach Meinung der meisten Autoren von untergeordneter Bedeutung sind (120, 129, 160). Bei sensibilisierten Empfängern und diskordant-xenogenen Transplantationspartnern jedoch, stellen sie die entscheidenden Triggerfaktoren der Abstoßungsreaktion dar (23, 25, 103, 106, 122, 123, 154). Hier liegen sie jedoch bereits vor Transplantation als präformierte Antikörper vor (62). Es gibt jedoch auch den Fall der akuten humoralen Abstoßung bei der komplementabhängige zytotoxische Antikörper erst nach dem Antigenkontakt gebildet werden (129). Dies

würde auch zeitlich mit der durchschnittlichen Überlebenszeit von 10,4 Tagen übereinstimmen. Auch die frühe Zunahme von B-Lymphozyten am 3. Tag und die Aktivierung des mononukleären Konzentrats spricht dafür.

1971 notiert Land (103) in einer Übersichtsarbeit zu Xenotransplantationen zwischen eng verwandten Spezies: " Die Entstehung von sensibilisierten Lymphozyten sowie humoralen Antikörpern wäre in diesem Fall als ursächlich für die Abstoßung des Organs verantwortlich. Infolge der besonders starken Immunogenität (zahlreiche genetisch unterschiedlich determinierte Antigene) wird das xenogene Antigen als besonders "fremd" erkannt. Die Folge ist ein rascherer und heftigerer Ablauf der Immunreaktion (5-8 Tage), wobei möglicherweise alle Phasen des allogenen Abstoßungsmechanismus durchlaufen werden, insbesondere auch die sekundäre Mitbeteiligung von Zellen (Granulozyten, Thrombozyten)".

Den Mechanismus der humoralen Transplantatzerstörung stellt man sich dabei analog zu den Vorgängen bei bereits präformierten Antikörpern vor (23, 25, 64, 69, 89, 103, 123, 140, 141):

Zytotoxische Antikörper binden sich an die HLA-bzw. DLA-Antigene und zerstören unter Komplementaktivierung die Membranen der Endothelzellen. Dadurch kommt es zur Verlangsamung der Blutströmung und zur Aggregation von polymorphkernigen Leukozyten und Thrombozyten. Dabei und möglicherweise auch bei der Antigen-Antikörper-Reaktion werden vasoaktive Substanzen frei, die zu einem weiteren Anstieg des Strömungswiderstandes und zu einer Verminderung des venösen Rückflusses führen. Zusätzlich ist eine zumindest lokale Steigerung des Gerinnungssystems und daraus resultierenden Gerinnungsthromben an der Verlegung der Strombahn beteiligt (103, 112, 113).

Histologisch findet man in diesen Fällen nur eine geringe Infiltration lymphoider Zellen, vielmehr dominieren vaskuläre

Transplantatschäden und eingewanderte Granulozyten (23, 89, 103, 127).

Nur in 3 Fällen konnte mittels FNAC ein Inkrement >5 registriert werden, wie bei zellulären Abstoßungsreaktionen. Auch histologisch konnte in den abgestoßenen Nieren nur in einem Fall ein stärkeres zelluläres Infiltrat gefunden werden. In einem Fall waren diskrete Anzeichen einer humoral-vaskulären Transplantatschädigung vorhanden.

Die Nieren eines weiteren Tieres zeigten neben einer hämorrhagischen Nekrose partielle Granulozytenanhäufungen, wie sie für hyperakute xenogene Abstoßungsreaktionen beschrieben sind (23, 89, 103, 127). In allen anderen Fällen waren nur wenige Zellen zu sehen und in 6 Fällen der 8 erfolgreichen Transplantate lag bereits eine Nekrose bzw. Autolyse vor.

Dies zeigt die Problematik der pathohistologischen Beurteilung der abgestoßenen Nieren. Da die Nieren so lange wie möglich im Empfänger belassen wurden, um lange Überlebenszeiten zu erzielen, waren sie häufig bei der Untersuchung bereits nekrotisiert. Aus den Nekrosen kann man jedoch keine eindeutigen Rückschlüsse auf den Abstoßungstyp ziehen.

Die zusätzlichen Komplikationen wie Lungenarterienembolie und Nierenvenenthrombose sind vielleicht in Richtung auf eine humoral bedingte Störung des Gerinnungssystems zurückzuführen.

Wenn die Abstoßung im untersuchten Modell vorwiegend humoral erfolgt, setzt das in der gegebenen Dosierung eine schwächere Wirkung von CSA auf B-Lymphozyten voraus. Da die CSA-Wirkung auf die humorale Immunantwort bis jetzt nicht eindeutig geklärt ist, ist zumindest denkbar, daß bei dieser Untersuchung die Proliferation von B-Lymphozyten nicht wirksam unterdrückt wurde. Auf welche Weise dabei die B-Zellstimulierung durch die xenogenen Transplantationsantigene erfolgt, ist ebenfalls nicht

gesichert. Es erscheint möglich, daß sie zumindest zum Teil T-Zell unabhängig erfolgt. Diese Thymus-unabhängige Stimulierung ist durch CSA nicht generell hemmbar (96, 168). Andererseits reichen wenige T-Helferzellen aus, um B-Zellen zu aktivieren. Voraussetzung ist eine T-Helferzell-Interaktion am HLA-DR-Molekül der ruhenden B-Zelle und die T-Helferzellprodukte B-Cell Growth Factor (BCGF) und B-Cell-Differentiation Factor (BCDF) (159, 160).

Andere Untersucher wie Homan und Green arbeiten mit wesentlich höheren bzw. toxischen CSA-Dosierungen von 35 und 50mg/kg KG im xenogenen Modell (54, 78). Homan (78) äußert die Vermutung, daß der CSA-Effekt in diesen hohen Dosierungen möglicherweise durch unspezifische antiinflammatorische Wirkung zustande kommt. Auch Gebhard (50), der durch intermittierende CSA-Therapie im allogenen Hundemodell die Reversibilität akuter Abstoßungsreaktionen zeigt, kann diese bei der Hälfte seiner Versuchstiere nicht mehr unterdrücken. Er führt diese Fälle, unterstützt durch FNAC, auf humorale Mechanismen zurück, die durch CSA nicht oder nur gering beeinflußt werden.

Der mangelnde Effekt der zusätzlichen Kortisontherapie spricht ebenfalls für humorale Mechanismen, denn auch Ertel (41, 43) beobachtete bereits die geringe Beeinflußbarkeit humoraler Reaktionen durch Kortison.

Als weitere Ursache des Funktionsverlustes bleibt die nephrotoxische Nebenwirkung des CSA. Sie machte sich sowohl histologisch als auch in den Biopsiepräparaten durch eine auffällige Vacuolisierung der Endothel- und Tubuluszellen bemerkbar. Diese ist auch bei allogenen Nierentransplantationen beim Hund ein bekanntes Phänomen (50, 77, 84). Ertel (41, 43) kann diesen Effekt bei Herztransplantationen beim Hund allerdings nicht beobachten. Es erscheint jedoch unwahrscheinlich, daß diese Nebenwirkung zum totalen Funktionsausfall oder gar Nekrosen der

Transplantate führten. Ein Einfluß des Lösungsmittels Lipofundin 20% (Braun Melsungen) auf die Vacuolisierung der Nierenzellen konnte in institutseigenen Pilotversuchen ausgeschlossen werden (61).

Abschließend kann man folgern, daß CSA in diesem Modell mit vorwiegend humoraler Abstoßung nicht das Immunsuppressivum der Wahl ist. Auch Sugimoto et al. (161) betont die Überlegenheit von ALS in seinem xenogenem Modell und die geringe Verbesserung durch CSA. Green et al. (54) formuliert in seiner Arbeit, daß CSA im xenogenen Modell die Abstoßungsreaktion nur so lange wirksam unterdrücken kann, solange sie vorwiegend auf zellulärem Weg geschieht.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei konkordant xenogenen Nierentransplantationen vom Fuchs auf den Hund konnte die Überlebenszeit durch CSA um ca. 70% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle verlängert werden (148). Dies bedeutet eine wesentlich geringere Verbesserung als sie mit ALG oder AMS im selbem Versuchsmodell erreicht wurde (128, 139, 148). Dabei ergab sich kein Unterschied zwischen hoch- und niedrigdosierter CSA-Therapie bzw. zusätzlicher Kortisonbehandlung.

Die FNAC zeigte bis auf 3 Fälle durchwegs niedrige Inkrementwerte, die bis zum Tod langsam anstiegen. Histologisch konnte eine überwiegend zelluläre Abstoßung nur in einem der acht erfolgreich transplantierten Tiere gefunden werden, während bei den anderen vorwiegend humorale Mechanismen beteiligt waren. In zwei Fällen waren histologische Zeichen einer humoral-vaskulären Reaktion zu sehen. Alle anderen Nieren waren bei Sektion bereits nekrotisiert. In allen nicht nekrotischen Nieren waren CSA bedingte nephrotoxische Schäden sichtbar.

Durch Simultanbiopsien der jeweils "en-bloc" transplantierten Nierenpaare konnte bewiesen werden, daß die Inflammation der beiden Nieren eine hohe Korrelation aufweist.

Als Hinweise für einen humoralen Abstoßungsmechanismus können die frühe Zunahme IgG-positiver Zellen, als Maß für den Anteil an B-Lymphozyten gelten. Auch der Anteil der aktivierten Zellen des mononukleären Konzentrats war während der ersten postoperativen Tage deutlich erhöht.

Die Messung der Luminol-verstärkten Chemilumineszenz im verdünnten Vollblut zeigte im postoperativen Verlauf eine signifikante Erhöhung der Ausgangsaktivität, mit deutlichem Maxima am 3. und 7. Tag, konnte aber nicht eindeutig mit Abstoßungsreaktionen korreliert werden.

Zusammen mit anderen Autoren (54, 161) kann man folgern, daß CSA bei Abstoßungsreaktionen mit überwiegend humoralen Mechanismen nicht das Immunsuppressivum der Wahl ist. Auch die Methode der FNAC ist in diesem Modell nur begrenzt aussagefähig. So lassen sich naturgemäß nur zelluläre Reaktionen bzw. späte monozytäre Abräumphasen dokumentieren. Die nephrotoxisch bedingte Vacuolisierung der Tubulus- und Endothelzellen kann allerdings mit der Feinnadelbiopsie gut erkannt werden.

Tab. 7

Kreatinin-Serumspiegel (mg/dl) Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	3,2	5,8	5,4	6,4	6,8										
C2	3,1	4,5	4,8	4,9	4,5	4,0	3,9	3,6	3,2	5,8	5,4	6,4	9,4	10,8	10,8
C3	2,3	2,7	2,6	5,1	8,1	10,4	12,5								
C4	2,0	4,0	4,4	5,0	4,8	6,0									
C5	3,3	4,6	4,2	4,3	5,3	5,5	5,3	5,9	7,9	11,9	10,8	13,8	13,8		
C6	2,7	3,3	3,6	3,6	3,7	3,0	3,7	4,7	6,6	8,7	10,0	11,0			
C7	2,4	3,5	4,2	4,8	5,1										
C8	2,7	4,3	5,2	6,1	6,4	6,4	7,4	8,1							

Tab. 9

Leukozyten im peripheren Blut ($\times 10^3$)

Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	9,6	18,2	20,5	20,6	19,2	18,0										
C2	6,4	15,2	11,3	7,8	10,2	6,4	4,4	5,2	3,9	4,3	5,9	6,1	10,7	30,0	24,5	25,6
C3	10,6	35,0	23,0	16,2	21,5	30,5	32,0	34,5								
C4	11,1	33,0	25,9	28,1	35,2	30,2	28,1									
C5	15,9	30,5	23,8	15,6	7,4	8,9	8,1	11,5	8,4	11,6	8,3	14,9	22,4	17,5		
C6	14,5	40,2	19,0	22,0	19,3	20,0	11,3	16,6	17,6	15,0	18,4	24,4	15,1			
C7	18,0	29,6	31,5	29,3	14,9	10,7										
C8	13,3	33,0	39,5	36,8	35,5	47,0	49,2	43,0	41,3							

Tab. 10

Leukozyten im peripheren Blut ($\times 10^3$)
Gruppe M (CSA+MP-Kombinationstherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M1	8,1	20,9	21,0	27,5	35,5	34,6	45,0	35,4	32,4	25,1						
M2	11,2	32,9	22,9	26,5	39,1	42,7	40,6									
M3	15,3	30,6	30,5	32,2	31,6	30,3										
M4	16,4	33,7	33,1	29,7	20,4	14,4	10,0	3,7	2,8							
M5	11,4	33,3	30,1	11,8	15,4	17,5	19,1	22,9	29,5	17,0	30,2	29,3	34,8	44,5	44,5	
M6	13,3	28,3	26,2	20,1	20,9	11,8										
M7	17,6	46,9	41,2	17,3	16,5	25,5	21,6	22,5	31,1	36,9						
M8	12,6	30,5	22,7	10,4	4,5	8,4										

Tab. 11

Lymphozyten im peripheren Blut ($\times 10^2$)

Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	2,9	3,6	10,3	10,3	13,4	5,4										
C2	1,9	4,6	5,7	4,7	5,1	6,4	15,0	10,9	0,8	3,9	10,6	9,2	7,5	6,0	2,5	2,6
C3	7,4	17,5	18,4	19,4	15,1	18,3	12,8	3,5								
C4	8,9	9,9	7,8	5,6	3,5	12,1	11,2									
C5	9,5	12,2	16,7	14,0	8,1	20,5	13,8	18,4	19,3	11,6	13,3	10,4	9,0	7,0		
C6	10,2	20,1	11,4	8,8	9,7	4,0	2,3	15,0	10,6	6,0	5,5	2,4	4,5			
C7	12,6	11,8	9,5	11,7	10,4	3,2										
C8	14,6	16,5	7,9	23,3	14,2	9,4	4,9	21,5	11,0							

Tab. 12

Lymphozyten im peripheren Blut ($\times 10^2$)

Gruppe M (CSA+MP-Kombinationstherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M1	4,1	8,4	14,4	16,5	10,7	3,5	18,0	7,1	9,7	7,5						
M2	5,6	13,2	6,9	13,3	11,7	4,3	12,2									
M3	6,1	6,1	6,1	6,4	9,5	18,2										
M4	6,6	3,4	9,9	3,0	8,2	5,8	11,0	0,7	0,6							
M5	13,7	3,3	3,0	1,2	10,1	5,2	9,6	6,9	3,0	3,4	18,1	8,8	3,5	8,9	8,9	
M6	8,0	8,5	2,6	8,0	2,1	3,5										
M7	17,6	14,1	20,1	3,5	6,6	2,6	13,0	6,8	3,1	7,4						
M8	5,0	6,1	11,4	4,2	0,9	2,5										

Tab. 13

Monozyten im peripheren Blut (%)

Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	4	3	7	7	6	10										
C2	5	6	8	7	12	7	7	9	3	13	7	10	4	5	4	4
C3	3	2	15	21	10	20	13	14								
C4	2	3	3	6	9	7	6									
C5	3	1	8	13	0	1	11	6	6	8	9	8	13	4		
C6	6	3	9	14	7	10	10	10	13	8	15	3	8			
C7	4	3	3	2	5	4										
C8	2	5	7	2	6	3	11	3	6							

Tab. 14

Monozyten im peripheren Blut (%)
Gruppe M (CSA+MP-Kombinationstherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M1	4	5	15	11	5	11	0	7	12	8						
M2	3	1	18	13	30	9	8									
M3	5	4	2	6	8	12										
M4	4	3	3	4	0	4	13	8	5							
M5	8	3	1	5	11	9	1	8	3	4	4	4	5	2	1	
M6	3	1	1	2	2	2										
M7	2	1	2	11	8	1	4	0	6	7						
M8	4	3	1	3	4	4										

Tab. 15

Lymphozyten im peripheren Blut (%)
Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	3	2	5	5	7	3										
C2	3	3	5	6	5	10	34	21	2	9	18	15	7	2	1	1
C3	7	5	8	12	7	6	4	1								
C4	8	3	3	2	1	4	4									
C5	6	4	7	9	11	23	17	16	23	10	16	7	4	4		
C6	7	5	6	4	5	2	2	9	6	4	3	1	3			
C7	7	4	3	4	7	3										
C8	11	5	2	6	4	2	1	5	3							

Tab. 16

Lymphozyten im peripheren Blut (%)
Gruppe M (CSA+MP-Kombinationstherapie)

Tag	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M1	S	4	7	6	3	1	4	2	3	3						
M2	S	4	3	5	3	1	3									
M3	4	2	2	2	3	6										
M4	4	1	3	1	4	4	11	2	2							
M5	12	1	1	1	7	3	5	3	1	2	6	3	1	2	2	
M6	6	3	1	4	1	3										
M7	5	3	5	2	4	1	6	3	1	2						
M8	4	2	5	4	2	3										

Tab. 17

Lymphozyten (!) in FNAC

Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	4	4	4	10	13										
C2	7	12	18	15	15	32	20	15	9	15	17	17	30	-	-
C3	4	10	17	10	5	7	8								
C4	4	5	4	10	12	8									
C5	2	10	4	16	20	35	32	28	17	20	10	21	17		
C6	2	9	3	3	4	6	8	11	11	10	-	-			
C7	3	6	9	4	26										
C8	-	3	1	5	5	3	1	-							

Tab. 19

Monozyten (%) in FNAC
Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	4	6	4	8	9										
C2	10	9	10	15	10	11	12	11	25	20	31	28	20	-	-
C3	3	12	23	15	13	4	10								
C4	5	4	4	5	8	4									
C5	4	10	11	10	11	7	9	12	16	20	35	20	22		
C6	9	7	6	17	10	16	12	40	38	41	-	-			
C7	3	9	13	5	24										
C8	-	6	12	6	19	15	13	-							

Tab. 20

Monozyten (%) in FNAC

Gruppe M (CSA+MP-Kombinationstherapie)

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M1	4	11	20	12	10	15	10	14	16						
M2	3	12	8	25	16	9									
M3	5	7	14	12	10										
M4	4	1	4	6	15	15	-	-							
M5	4	4	8	4	10	13	9	5	5	1	6	10	15	-	
M6	4	4	-	13	7										
M7	7	4	5	9	3	2	15	12	-						
M8	5	12	6	6	6										

Tab. 21

Corrected Inkrement

Gruppe C (CSA-Monotherapie)

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
C1	0,4	0,2	0	1,2	3,7										
C2	1,2	1,4	1,8	1,6	1,3	0,8	1,1	2,9	3,7	5,6	6,8	7,8	8,8	-	-
C3	0,2	0,4	1,3	1,4	0	0,3	0,7								
C4	0,5	0,4	0,2	1,1	1,4	0,4									
C5	0,6	0,7	0	2,5	2,0	2,5	2,6	3,3	3,3	5,0	7,9	7,3	6,9		
C6	1,2	0,3	0,3	3,8	1,1	1,4	2,4	6,8	8,6	6,1	-	-			
C7	0	1,5	3,2	0,7	6,9										
C8	-	2,7	1,9	0,3	4,7	1,6	2,0	-							

Tao. 22

Corrected Inkrement

Gruppe M (CSA+MP-Kombinationstherapie)

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M1	0	0,2	2,6	1,9	0,4	3,6	1,8	1,8	2,1						
M2	0,4	0,4	0,5	1,5	2,4	0,5									
M3	0,2	1,3	1,6	1,3	0,7										
M4	0,7	0,2	0,2	1,4	2,9	1,5	-	-							
M5	0	0,8	0,9	0	0,8	3,1	0,2	0,5	1,4	1,0	0,8	1,5	2,8	-	
M6	0,7	0,7	-	2,4	1,2										
M7	1,6	1,1	0,4	1,1	1,0	1,6	3,0	1,2	-						
M8	0,9	2,8	1,4	0,8	0,8										

Tab. 23

Spezifische Chemilumineszenz (CL) pro 1000 Granulozyten
im 1:10 verdünnten Vollblut in Prozent, bezogen auf den
Ausgangswert am 1. präoperativen Tag (= 100 %)

Tag	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M5	100	67	274	373	660	294	191	279	232	387	984	453	208	344	372	427	
M7	100	69	79	41	57	64	71	119	246	131	93						
M8	100	71	47	64	62	47	17										
C6	100	58	115	186	364	228	176	231	268	243	339	449	126	185			
C7	100	132	58	97	142	98	97										
C8	100	82	118	179	326	271	163	234	363	192							

Tab. 24

Chemilumineszenz in separierten Granulozyten
 Prozentwerte, errechnet aus den maximalen cpm x $10^3/1000$ Zellen
 bezogen auf den ersten präoperativen Tag (= 100 %)

Tag	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
-----	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

M5	100	38	168	272	320	188	128	148	60	150	450	-	240	136	70	116	
----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----	-----	-----	---	-----	-----	----	-----	--

M7	100	118	193	89	79	129	114	157	79	171	129						
----	-----	-----	-----	----	----	-----	-----	-----	----	-----	-----	--	--	--	--	--	--

M8	100	28	111	112	44	34	31										
----	-----	----	-----	-----	----	----	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

C6	100	95	301	168	226	462	504	420	389	643	774	800	429	366			
----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	--	--	--

C7	100	54	391	341	470	296	444										
----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

C8	100	53	136	218	268	128	171	138	184	136							
----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	--	--	--	--	--	--	--

Tab. 25

Aktivierete Leukozyten (%) im mononukleären Konzentrat

Tag	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M5	6,1	8,3	13,8	16,2	21,5	8,2	2,6	6,4	8,7	10,3	16,4	20,1	18,6	17,3	5,2	3,7	
M7	8,7	6,5	12,3	17,0	15,7	9,8	8,7	6,5	7,4	10,2	11,3						
M8	7,9	3,5	8,3	18,2	24,0	19,3	5,6										
C6	5,6	12,3	7,7	13,5	12,7	9,4	6,8	11,1	14,7	28,3	11,5	10,2	8,3	7,8			
C7	17,5	8,2	11,8	15,7	13,2	8,1	7,5										
C8	5,7	12,2	15,2	19,7	10,1	11,5	8,2	3,5	3,6	4,2							

Tab. 26

IgG-positive Zellen (%) im mononukleären Konzentrat

Tag	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M5	18	11	6	17	24	15	13	9	14	16	20	17	11	7	7	5	
M7	21	14	5	15	27	7	12	8	7	10	11						
M8	19	13	6	16	21	19	19										
C6	20	10	3	7	37	10	13	15	13	10	14	12	8	5			
C7	23	6	4	8	32	22	14										
C8	29	20	9	12	40	27	25	19	20	18							

LITERATUR

1. ALLEN R.C.
Chemiluminescence and the study of phagocyte redox metabolism
In: Biochemistry and function of phagocytes
Hrsg: Rossi F.
Plenum Publishing Corp. New York, USA, S. 411-419, 1982
2. ALLEN R.C.
Biochemiexcitation: Chemiluminescence and the study of biological oxygenation reactions
In: Chemical and biological generation of excited states
Hrsg: Adam W. u. Cilento G.
Academic Press, New York, USA, 309-344, 1982
3. ALLEN R.C.
Chemiluminescence as an approach to the study of phagocyte biochemistry and humoral immune mechanisms
In: Analytical Applications of Bioluminescence and Chemiluminescence
Hrsg.: Kricka L.J., Stanley P.E., Thorpe G.H.G. und Whitehead T.P.
Academic Press, London, UK, 279-288, 1984
4. ANGLE M.J., KLESZIUS P.H.
Luminol - dependent chemiluminescence analysis of the variables of the phagocytic response by canine granulocytes
Vet. Immunol. and Immunopathol., 4 : 333, 1983
5. AVARMOVICI A.
Les transplantations du rein
Lyon chirurgical, Vol.21: 734, 1924
6. BAGGIOLINI M.
Phagocyte activation and its modulation by drugs
In: Handbook of Inflammation
Vol.5 The Pharmacology of Inflammation
Hrsg: Bonta I.L., Bray M.A., Pamham M.J.
Elsevier Science Publishers B.V., 1985
7. BAILEY L.L., YUUG J., JOHNSON W.
Orthotopic cardiac xenografting in the newborn
Presented at the tenth annual meeting of the Western Thoracic Surgical Association June 20-23, 1984
8. BAILEY L.L., JANG J., JOHNSON, W.
Orthotopic cardiac xenografting in the newborn goat
J. Thorac. Cardiovasc.Surg., vol. 89: 242, 1985
9. BAILEY L.L., NEHLSSEN-CANNARELLA S.L.
Concepcion W., Jolley W.B.
Baboon-to-Human cardiac xenotransplantation in a neonate
JAMA, Vol. 254, No.23: 3321, 1985

10. BAILEY L.L., NEHLSSEN-CANARELLA S.L.
Observations on cardiac xenotransplantation
Transpl. Proc., Vol. XVIII, No.3, Suppl.2 : 88, 1986
11. BARNARD C.N.
A human cardiac transplant:
An interim report of a successful operation performed at
Groote Schuur Hospital, Cape Town
South Afr.Med. J., Vol. 41: 1271, 1967
12. BARNARD C.N., WOLPOWITZ A., LOSMAN J.G.
Heterotopic cardiac transplantation with a xenograft for
assistance of the left heart in cardiogenic shock after
cardiopulmonary bypass
South Afr. Med. J. Vo. 52 : 1035, 1977
13. BIREN C.A., BARR R.J., CULLOUGH J.L., BLACK K.S. HEWITT C.W.
Prolonged viability of human skin xenografts in rats by
cyclosporine
J.Invest.Dermatol., Vol.86, No.6: 611, 1986
14. BRITTON S., PALACIOS R.
Cyclosporin A - usefulness, risks and mechanisms of
action
Immunol. Rev., Vol.65: 5, 1982
15. BEGEMANN H., RASTETTER J.
Atlas der klinischen Hämatologie
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York
3. Aufl., 1978
16. BENACERRAF B., UNANUE E.R.
Immunologie, Kurzlehrbuch
de Gruyter Verlag, Berlin, New York, 1982
17. BERNHEIM C.
Allogene Nierentransplantation beim Hund nach Immu-
nisierung des Empfängers mit spenderspezifischen
autologen Lymphoblasten
Disseration München 1984
18. BOEHRINGER MANNHEIM
Bioluminescence, chemiluminescence
In: Methods of bioluminescence analysis
Boehringer, Mannheim, o.J.o.A.
19. BOREL J.F.
Cyclosporine: Historical perspectives
Transpl. proc., Vol. XV, No.4, Suppl. 1, 1984

20. BOREL J.F.
Aus unseren Laboratorien:
Cyclosporin A
Triangel Bd. 20, Nr. 3:97, 1981
21. BOREL J.F., FEURER C., MAGNEE C., STÄHELIN H.
Effects of the new anti-lymphocytic peptide
cyclosporin A in animals
Immunology Vol. 32:1017, 1977
22. BLOCK T.
Feinnadelaspirationsbiopsie und Transplantat-
aspirationszytologie zur Untersuchung der immu-
nossuppressiven Wirkung antilymphozytärer Anti-
körper (ALG) direkt im Transplantat nach allogenen
Hunde-Nierentransplantationen
Dissertation München 1984
23. BRENDEN W., HAMMER C., CHAUSSY CH.
Grundlagen und Ergebnisse xenogener Organtrans-
plantationen
In: Pichlmayr R., Transplantationschirurgie
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1981
24. BUNJES D., HARDT C., RÖLLINGHOFF M., WAGNER H.
Cyclosporin A mediates immunosuppression of primary
cytotoxic T cell responses by impairing the
release of interleukin 1 and interleukin 2
Eur.J.Immunol., Vol. 11:657, 1981
25. CALNE R.Y.
Organ transplantation between widely disparate
species
Transpl. proc., Vol. II , No. 4: 550, 1970
26. CALNE R.Y.
Immunosuppression for organ grafting - observations
on cyclosporin A
Immunological Rev. Vol. 46:113, 1979
27. CALNE R.Y. (Ed.)
Transplantation immunology, clinical and experimental
Oxford University Press, 1984
28. CAPLAN A.L.
Ethical issues raised by research involving xenografts
JAMA, Vol.254, No.23: 3339, 1985
29. CAVES P.K., DONG E., MORRIS R.E., SHUMWAY N.E.
The immunologic diagnosis of orthotopic cardiac
allograft rejection in dogs
Transpl. proc. Vol. V, No. 1 :745, 1973

30. CHAUSSY C., HAMMER, C., EISENBERGER F., v.SCHEEL J., LAND, W., PIELSTICKER K. et al.
Some aspects of the rejection of xenogeneic kidney transplants in different donor recipient combinations
Europ. Soc. Exp. Surg. 7th Congress, 1972
31. CHAUSSY C., HAMMER C., v.SCHEEL J., EISENBERGER F., PIELSTICKER K., BRENDEN W.
Experimental xenogeneic kidney transplantation in closely related species
Transplantation of cat kidneys to untreated and sensitized dogs
Res.exp.Med., 159:266, 1973
32. CHAUSSY C., HAMMER C., v.SCHEEL J., PIELSTICKER K., SOLLINGER H.W., PFEIFER K.J. et al.
Xenogeneic skin and kidney transplants in a closely related canine system, fox-dog
Transpl. Vol. 20, No.2 :150, 1975
33. COOLEY D.A., HALLMANN G.L., BLOODWELL R.D.
Human heart transplantation
Am.J. Cardio., Vol.22: 804, 1968
34. DEMPSTER W.J., CALNAN J.S., KULATILAKE A.E.
Time of antigen release from homografts
Brit.Med.J., 1, 23, 1963
35. DEODHAR S.D.
Review of xenografts in organ transplantation
Transpl.Proc., Vol.XVIII, No.3, Suppl.2 (June): 83, 1986
36. DICKLER H.B., ADKINSON N.F., TERRY W.D.
Evidence for individual human peripheral blood lymphocytes bearing both B and T cell markers
Nature, Vol. 247:213, 1974
37. DOSSETOR J.B., MYBURGH J.A.
Posttransplant immunologic monitoring: Summation
Transpl. Proc., Vol. X, No.3:661, 1978
38. DRUTZ D.J., MILLS J.
Immunity and infection
In: Basic and clinical immunology
Hrsg: Stites D.P., Stoba J.D., Fudenberg H.H., Wells J.V.
Lange Medical Publications, Los Atlos, Cal., 5, 1984

39. DUSWALD K.H., V.SCHEEL J., HAMMER C., BRENDDEL W.
Langzeitüberleben von Hauttransplantaten im xeno-
genen System Wolf-Hund
Res. exp. Med. 187:255, 1976
40. ELSBACH P., WEISS J.
A reevaluation of the rates of the O₂-dependent and
O₂-independent microbicidal systems of phagocytes
Rev. Infect.Dis. Vol. 5, No. 5:843, 1983
41. ERTEL W., REICHENSPURNER H., HAMMER C.
WELZ A., ÜBERFUHR P., HEMMER W. et al.
Heart transplantation in closely related species:
a model for humoral rejection
Transpl.Proc., Vol.XVI, No.15: 1259, 1984
42. ERTEL W., REICHENSPURNER H., HAMMER C., LERSCH C.,
PLAHL M., BRENDDEL W. et al.
Cytoimmunologic monitoring: a method to reduce biopsy
frequency after cardiac transplantation
Transpl.Proc., Vol.XVII, No.1: 204, 1985
43. ERTEL W.
Zytoimmunologisches Monitoring nach allogener und
xenogener Herztransplantation im Tiermodell
Dissertation München 1986
44. FADEN, H., MACIEJEWSKI N.
Whole blood luminol-dependent chemiluminescence
J. Reticuloendothelial Soc. Vol. 30, No.3:219, 1981
45. FISCHER, H., STAUDINGER H.
Chemilumineszenz, ein Indikator für Zellaktivierung?
Klin. Wochenschr., Vol.59:199, 1981
46. FORBES R.D.C., GUTTMANN R.D.
Mechanisms of humoral-mediated cardiac allograft
rejection in vivo: controlled, comparative morpho-
logical studies utilizing inbred rat models
Heart Transpl. Vol.1, No.3:196, 1982
47. FRENCH M.E., THOMPSON J.F., HUNNISETT A.G.W.
WOOD R.F.M., MORRIS P.J.
Impaired function of renal allografts during treatment with
cyclosporin-A: nephrotoxicity or rejection?
Transpl.Proc., Vol.XV, No.1: 485, 1983

48. GAMS E., CHAUSSY C., ECKERSDORF B., HAGL S.,
HAMMER C., LAND W. et al.
Xenogene heterotope Herztransplantation im nahe verwandten Speziessystem Fuchs-Hund
Res.exp.Med., 157:228, 1972
49. GEBHARD F., HAMMER C., KROMBACH F., BÖHM D., BRENDEN W.
Inflammatory cells during acute rejection in dog renal allografts under intermittent cyclosporine monotherapy
Transpl.Proc., Vol. XVII, No.1: 857, 1985
50. GEBHARD F.
Feinnadelbiopsie bei Nierentransplantation
A. Reversibilität akuter Abstoßungsreaktionen unter intermittierender Cyclosporin A Therapie im allogenen Versuchsmodell Hund-Hund
B. Untersuchungen zur Expression von Oberflächenantigenen während Abstoßungsreaktionen im xenogenen System Wolf-Hund
Dissertation München 1985
51. GOLDSTEIN I.M., ROOS D., WEISSMANN G., KAPLAN H.B.
Influence of corticosteroids on human polymorphonuclear leukocyte function in vitro
Inflammation 1, 305, 1976
52. GORDON M.Y., SINGER J.W.
Selective effects of cyclosporin A on colony forming lymphoid and myeloid cells in man
Nature Vol. 279:433, 1979
53. GREEN C.J., KEMP E., KEMP G.
Short communication
The effects of cyclosporin A, tidopidine hydrochloride and cobra venom factor on the hyperacute rejection of discordant renal xenografts
Invest. cell pathol., Vol.3:415, 1980
54. GREEN C.J., KEMP E., KEMP G., LARSEN S., STARKLINT H., SIMPKIN S.
Prolongation of concordant renal xenografts in rabbit recipients by a short course of cyclosporin A treatment
Chapter 13 in White D.J.G., Cyclosporin A
Elsevier Biomedical Press, Amsterdam - New York - Oxford 1982
55. GREGOIR W.
L'anastomose uretero-vesicale laterale
Acta Urol. Belg. 25, 4, 1957
56. HÄYRY P., v.WILLEBRAND E., AHONEN J., LINDSTRÖM B.L., EKLUND B.
Use of fine-needle aspiration cytology of the in situ inflammatory response of kidney allograft rejection and the impact of glucocorticosteroids on the inflammation
Transplant.proc.Vol.12,2: 331, 1980

57. HÄYRY P., v.WILLEBRAND E., AHONEN J., EKLUND B.,
LAUTENSCHLAGER I.
Monitoring of organ allograft rejection by trans-
plant aspiration cytology
Annals of Clin Res. 13:264, 1981
58. HÄYRY P., v.WILLEBRAND E.
Practical guidelines for fine needle aspiration
biopsy of human renal allografts
Annals of Clin. Res. 13:288, 1981
59. HÄYRY P.
Immunobiology of transplant rejection
Annals of Clin. Res. 13:172, 1981
60. HAGL, S., BECK, G., BRENDEN W., LAND W., MAYR N.,
MENDLER N. et al.
Xenogene Herztransplantation im nah stammesverwandten
Speziessystem Fuchs-Hund
Deutsche med.Wochenschr., Nr.5, 96 Jg. :216, 1971
61. HAMMER C.
Persönliche Mitteilung
62. HAMMER C., CHAUSSY C., BRENDEN W.
Preformed natural antibodies in animals and man
Europ.Surg.Res. 5:162, 1973
63. HAMMER C., CHAUSSY C., V.SCHEEL, PONGRATZ H.,
ROSCHER E., BRENDEN W.
Survival times of skin and kidney grafts within
different canine species in relation to their
genetic markers
Transpl. proc., Vol. VII, No. 3:439, 1975
64. HAMMER C., LAND W., BRENDEN W.
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammes-
verwandten Speziessystemen
Zum Mechanismus der xenogenen hyperakuten Abstoßungs-
reaktion und deren Modifizierung unter dem Einfluß von
aktiv und passiv erzeugtem Enhancement
Res.exp. Med. 159:239, 1973
65. HAMMER C., LAND W., HILLEBRAND G., RÖSSLER, E.
Überwachung von Nierenabstoßungsreaktionen durch
Feinnadelaspirationszytologie
Chir.Forum 1982, Langenbecks Archiv
Springer Verlag, Chir.Suppl.17, 1982

66. HAMMER C., LAND W., PIELSTICKER K., BRENDEN W.
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt
stammesverwandten Speziessystemen
Beeinflussung der hyperakuten Abstoßung spezies-
fremder Organe durch chronische Immunisierung
von Hunden (Empfänger) mit Gesamtleberhomogenat
vom Schaf (Spender)
Res.exp.Med. 159, 124, 1972
67. HARDY J.D., CHAVEZ C.M., KURRUS F.D., NEELY W.A.,
ERASLAN S., TURNER M.D. et al.
Heart transplantation in man: developmental studies
and report of a case
JAMA Vol. 188, No.13:114, 1964
68. HARDY M.A., OLUWOLE S., FAWWAZ R., SATAKE K.,
NOWYGRAD R., REEMTSMA K.
Selective lymphoid irradiation
III. Prolongation of cardiac xenografts and allografts
in presensitized rats
Transpl.Vol.33, No.3: 237, 1982
69. HARDY M.A., TODD G., REEMTSMA K.
Xeno-transplantation
In: Slavin S. (Ed.), Bone Marrow & Organ Transplan-
tation
Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1984
70. HEBERER M., ZBINDEN A.M., ERNST M., DÜRING M.,
HARDER F.
The effect of surgery and anesthetic agents on granulo-
cyte- chemiluminescence in whole blood
Experientia 41:342, 1985
71. HEBERER M., ERNST, M., HARDER, F., FISCHER H.
Die Chemilumineszenz von Granulozyten bei Tumor-
und Transplantationspatienten
Langenbecks Arch.Chir.Vol. 355:643, 1981
72. HEBERER M., ERNST M., DÜRIG M., ALLGÖWER M.,
FISCHER H.
Measurement of chemiluminescence in freshly drawn
human blood
Klin.Wochenschr., 60:1443, 1982
73. HECKNER F.
Praktikum der mikroskopischen Hämatologie
Urban & Schwarzenberg Verlag 1981
74. HERSH E.M., BUTLER W.T., ROSSEN R.D., MORGAN R.O.
SUKI W.
In vitro studies of the human response to organ allo-
grafts: appearance and detection of circulating
activation lymphocytes
J. Immunol., Vol. 107, No.2:571, 1971

75. HOMAN W.P., FABRE, J.W., WILLIAMS K.A., MILLARD P.R., MORRIS P.J.
Studies on the immunosuppressive properties of cyclosporin A in rats receiving renal allografts
Transpl. Vol.29, No. 5:361, 1980
76. HOMAN W.P., FRENCH M.E., FABRE J.W., MILLARD P.R., DENTON T.G., MORRIS P.J.
The interaction of cyclosporin A with other immunosuppressive agents in dog recipients of renal allografts
Transpl. proc., Vol.XII, No.2:287, 1980
77. HOMAN W.P., FRENCH M.E., MORRIS P.J.
Effects of cyclosporin A upon the function of is-chemically damaged renal autografts in the dog
Transpl., Vol.30, No.3:228, 1980
78. HOMAN W.P., WILLIAMS K.A., FABRE J.W., MILLARD P.R., MORRIS P.J.
Prolongation of cardiac xenograft survival in rats receiving cyclosporin A
Transpl., Vol.31, No.3:164, 1981
79. HOPT U.T., THIEDE K., MÜLLER G.H., BOCKHORN H.
Blockade der aktiven Lymphozytenrekrutierung zu Allotransplantaten. Ein neuer Wirkungsmechanismus der Glucocorticoide in vivo
Chir.Forum 84 f.experim. u. klin. Forschung
Hrsg.: L. Koslowski, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg 1984
80. HUDSON L., SPRENT J., MILLER J .F.A.P., PLAYFAIR J.H.L.
B cell derived immunoglobulin on activated mouse T lymphocytes
Nature, Vol.251: 60, 1974
81. HUTCHINSON I.F., SHADUR C.A., DUARTE J.S.A., STROM T.B., TILNEY N.L.
Cyclosporin A spares selectively lymphocytes with donor-specific suppressor characteristics
Transpl., Vol.32, No.3:210, 1981
82. JABOULAY M.
Grefe de reins du coude par soudures arterielles et reineuses
Beulletin Du Lyon Medical, Vol. 107:575, 1906
83. JANCO R.L., ENGLISH D.
Cyclosporine and human neutrophil function
Transpl. Vol. 35, No.5:501, 1983
84. JARCK H.U., BLOCK T., HAMMER C., BERNHEIM C.
Immunsuppression und nephrotoxischer Effekt von Ciclosporin A und ALG bei Nierentransplantationen
Langenbecks Archiv für Chirurgie, Suppl. :189, 1983

85. KAHAN B.D.
Immunologic monitoring: utility and limitations
Transpl. Proc.Vol.XVII, :1537, 1985
86. KAKITA A., BLANCHARD J., FORTNER J.G.
Hamster - to - Rat cardiac xenografts. A useful
model for transplantation studies
Journ.of Surg.Res., Vol. 19:99, 1975
87. KATO T., WOKALEK H., SCHÖPF W., EGGERT H.,
ERNST M., RIETSCHER E.T. et al.
Measurement of chemiluminescence in freshly drawn
human blood
Klin.Wochenschr. 59:203, 1981
88. KEMP E., KEMP G., SVENDSEN P., NIELSEN E., BUHL, M.R.,
JACOBSEN I.A.
Prolongation of xenograft survival by infusion of
heterologous antibodies against recipient serum
Acta Path. Micr.Scand., Sect. C, Vol. 84:342, 1976
89. KEMP E.
Xenografting, the future of organ transplantation
Odense University Press 1978
90. KEMP E., KEMP G., STARKLINT H., LARSEN S.
Immunosuppression with cobra venom factor, anti-
platelet aggregator, and cyclosporin A in renal
xenotransplantation
Transpl. proc., Vol.XIV, No.1:116, 1982
91. KEMP E.
The future of organ xenotransplantation
In: Slavin S. (Ed) Bone Marrow & Organ Transplantation
Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, 1984
92. KEOWN P.A., ESSERY G.L., STILLER C.R., SINCLAIR N.R.,
MULLEN R., ULAN R.A.
Mechanisms of immunosuppression by cyclosporin
Transpl. proc. Vol.XIII, No.1:386, 1981
93. KEOWN P.A., ULAN R.A., WALL W.J.
STILLER C.R., SINCLAIR N.R., CARRUTHERS G. et al.
Immunological and pharmacological monitoring
in the clinical use of cyclosporin A
Lancet, Vol. 28: 686, 1981

94. KHARAZMI A., SVENSON M., NIELSEN H., BIRGENS H.S.
Effect of cyclosporin A on human neutrophil and
monocyte function
Scan.J.Immunol. 21:585, 1985
95. KING M.C., WILSON A.C.
Evolution at two levels in humans and chimpanzes
Science, Vol.188, No.4 :107, 1975
96. KLAUS G.G.B., HAWRYLOWITZ C.M.
Activation and proliferation signals in mouse
B cells
II. Evidence for activation (Go to G1) signals differing
in senssitivty to cylcosporine
Eur.J.Immunol., Vol. 14:250, 1984
97. KOLB E.
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere
Band I und II
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1974
98. KOLLER C., HAMMER C., GOKEL J.M.
LAND W., HILLEBRAND D., CASTRO L.A. et al.
Correlation between core biopsiy and aspiration
cytology
Transpl. Proc. XVI :1298, 1984
99. KRAUSE H.
Versuche zur Verbesserung der Immunsuppression
bei Organtransplantationen zwischen nah verwandten
xenogenen Spendern und Empfängern anhand des Ver-
suchsmodells Fuchs-Hund
Dissertation München 1980
100. KROMBACH F., HAMMER C., GEBHARD F., DANKO I., SCHOLZ S.,
GOKEL M.
The effect of cyclosporine on wolf to dog kidney xenografts
Transpl. Proc. Vol. XVII, No.1 :1436, 1985
101. KUMAGAI K., ABO T., SEKIZAWA T., SASAKI M.
Studies of surface immunogloblins on human B
lymphocytes
I. Dissociation of cell-bound Immunoglobulins
with acid pH or at 37 C
J.Immunol., Vol. 115, No.4:982, 1975

102. KUNKL A., KLAUS G.G.B.
Selective effects of cyclosporin A on functional
B cell subsets in the mouse
J. Immunol., Vol. 125, No.6:2526, 1980
103. LAND W.
Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen Organ-
transplantation
Der Chirurg, Vol.42:172, 1971
104. LAND W., CORRELL J., PIELSTICKER, K., BRENDEN W.
Renale in vitro-Xenohämoperfusion in verschiedenen
Spezieskombinationen
Res.exp.Med., Vol. 159:276, 1973
105. LAND W., HAMMER C., FIEDLER, L., BRENDEN W.
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt
stammesverwandten Speziessystemen
Res.exp.Med., Vol. 158:1, 1972
106. LINN B.S., JENSEN J.A., PORTAL P., SNYDER G.B.
Renal xenograft prolongation by suppression of
natural antibody
J. Surg.Res., Vol 8, No.5:211, 1968
107. MARCEAU J.P., HALLENBECK G.A., ZOLLMANN P.E.,
BUTLER H.C., SHORTER R.G.
A comparisson of autoplatic, allogeneic and xeno-
geneic perfusion of isolated kidneys
J.Surg.Res., Vol.V, No.11:492, 1965
108. MARCHALONIS J.J., CONE R.E., ATWELL J.L.
Isolation and partial characterization of lympho-
cyte surface immunoglobulins
J. Exp.Med., Vol.135:956, 1972
109. MC DONALD J.C., LEE J.H.
Spontaneous blastogenic transformation
A monitor of immunosuppression
Arch.Surg.Vol.109:320, 1974
110. MEDAWAR P.B.
The behaviour and fate of skin autografts and skin
homografts in rabbits
J.Anat.Vol.78:176, 1944

111. MERKEL F.K., BIER M., BEARERS C.D., MERRIMAN W.G.,
WILSON C., STARZL T.E.
Modification of xenograft response by selective
plasmapheresis
Transpl.proc., Vol.III, No.1:534, 1971
112. MESSMER K., HAMMER C., LAND W., FIEDLER L.,
KLÖVENKORN W.P., HOLPER K. et al.
Modification of hyperacute xenogeneic kidney
rejection
Transpl.proc., Vol.III, No.1:542, 1971
113. MOBERG A.W., SHONS A.R., GEWURZ H., MOZES M.,
NAJARIAN J.S.
Prolongation of renal xenografts by the simultaneous
sequestration of preformed antibody, inhibition of
complement, coagulation and antibody synthesis
Transpl. proc., Vol.III, No.1:538, 1971
114. MORRIS P.J.
Cyclosporin A
Transpl. Vol.32, No.5:349, 1981
115. MOSBACH-OSMEN L., HUMEZ S., KAPONEN M., FONTENEAU P.,
LOOR F.
Cyclosporine facilitates B-cell membrane immunoglobulin
capping
Immunol., Vol. 57, :573, 1986
116. MOZES M.F., GEWURZ H., GUNNARSON A., MOBERG A.W.,
WESTBERG N.G., JETZER T. et al.
Xenograft rejection by dog and man: isolated kidney
perfusion with blood and plasma
Transpl. proc., Vol.III, No.1:531, 1971
117. MUNDY A.R.
Prolongation of cat to dog renal xenograft survival
with prostacyclin
Transpl.Vol.30, No.3:226, 1980
118. PAAVOMEN T., HÄYRY P.
Effect of cyclosporin A on T-dependent and T-inde-
pendent immunoglobulin synthesis in vitro
Nature Vol. 287:542, 1980
119. PALAY D.A., CLUFF C.W., WENTWORTH P.A., ZIEGLER H.K.
Cyclosporine inhibits macrophage-mediated antigen
presentation
Immunol. Vol.136, No.12:4348, 1986

120. PEDERSON N.C., MORRIS B.
The role of humoral antibody in the rejection of
primary renal allografts in sheep
J.Exp.Med., 140, 619, 1974
121. PERPER R.J.
Renal heterotransplant rejection
A model for separation of humoral and cellular
mechanisms
Transpl. Vol.12, No.6:519, 1971
122. PERPER R.J., NAJARIAN J.S.
Experimental renal heterotransplantation
I. In widely divergent species
Transpl. Vol.4, No.4:377, 1966
123. PERPER R.J., NAJARIAN J.S.
Experimental renal heterotransplantation
II. Closely related species
Transpl. Vol.4, No.6:700, 1966
124. PICHLMAYR R.
Transplantationschirurgie
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1981
125. PICHLMAYR R., TIDOW G.
Operationsmethoden und Operationstechnik - Standard-
verfahren
In: Pichlmayr R., Transplantationschirurgie
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1981
126. PICHLMAYR R.
Transplantationskonferenz in Marburg, Nov.1986
127. PIELSTICKER K., THOENES G.H.
Vascular transplant rejection of rat renal allografts
across strong histocompatibility barriers
Virchows Arch., B cell Path., 21:349, 1976
128. PONGRATZ H.
Haut- und Nierentransplantationen in den Spezies-
systemen Fuchs-Hund, Dingo-Hund und Wolf-Hund
Dissertation München 1975
129. PORTER K.A.
The effects of antibodies on human renal allografts
Transpl.Proc.8, 189, 1976

130. PRANGE C.H., KLIEMS G.
Bisherige Erfahrung und aktuelle Ergebnisse xenogener
Nierentransplantationen
Med.Welt, Bd.27, Heft 42:2003, 1976
131. PREUD'HOMME J.L., FLANDRIN G.
Identification by peroxidase staining of monocytes
in surface immunofluorescence tests
J. Immunol., Vol.113, No.5, 1650, 1974
132. PRINCETEAU M.
Grefte renale
J. Med.Bordeaux 26:549, 1905
133. RAFF M.C.
Two distinct populations of peripheral lymphocytes
in mice distinguishable by immunofluorescence
Immunol., Vol.19:637, 1970
134. RAPAPORT F.T., BACHVAROFF R.J.
Current trends in immunologic surveillance
and monitoring
Transpl. Proc.Vol.XV:1999, 1983
135. REDL H., FLYNN P.J., LAMACHE H., SCHIESSER A.,
SCHLAG G., HAMMERSCHMIDT D.E.
Aggregation, chemotaxis and chemiluminescence of canine
granulocytes
Studies utilizing improved cell preparation techniques
Inflammation, Vol.7, No.1:67, 1983
136. REDL H., LAMACHE H. SCHLAG G.
Red cell count dependence of whole blood granulo-
cyte luminescence
Klin. Wochenschr. 61:163, 1983
137. REED J.C., ABIDI A.H., ALPERS J.D., HOOVER, R.G.,
ROOB R.J., NOWELL P.C.
Effect of cyclosporin A and dexamethason on inter-
leukin 2 receptor gene expression
J. Immunol. Vol. 137, No.1:150, 1986
138. REEMTSMA K., MCKRACKEN B.H., SCHLEGEL J.U., PEARL M.A.,
DEWITT C.W., CREECH O.
Reversal of early graft rejection after renal hetero-
transplantation in man
JAMA, Vol. 187, No.10:691, 1964

139. E. ROSCHER
Xenogene Nierentransplantation im nahverwandten Spezies-
system Fuchs-Beagle
Dissertation München 1978
140. ROSENBERG J.C., BROERSMA R.J., BULLEMER G., MANNEN E.F.,
LENAGHAN R., ROSENBERG B.F.
Relationship of platelets, blood coagulation and fibrinolysis to hyperacute rejection of renal xenografts
Transpl., Vol. 8, No.2:152, 1969
141. ROSENBERG J.C., HAWKINS E., RECTOR F.
Mechanisms of immunological injury during anti-body-mediated hyperacute rejection of renal heterografts
Transpl., Vol.11, No.2:151, 1971
142. ROSENGARD B.R., HALL T.S., HUCHINS G.M.
BAUMGARTNER W.A., BORKON A.M., SMITH R.R.L. et al.
Modification of the immune response to xenografts by donor and graft pretreatment
Transpl. Proc., Vol.XVIII, No.3:449, 1986
143. RUSH D.N., NIVEN D.A., COOK J.M., JEFFERY J.R.
Increased monocyte size and Fc receptor- dependent chemiluminescence in renal transplant patients
Transpl. proc., Vol. XVII, No.4:1978, 1985
144. RUSH D.N., NIVEN D.A., COOK J.M., JEFFERY J.R.
Increased monocyte Fc-mediated chemiluminescence in renal transplanted patients
Transpl. proc., Vol.XVII, No.4:1097, 1984
145. RUSH D.N., NIVEN D.A., TAYLON D.J., JEFFERY J.R.
Increased hydrogen peroxide production by monocytes of renal transplant patients: Suppressive effects of H2O2 on lymphocyte proliferation
Transpl.Proc.Vol.XVIII, No.1:221, 1986
146. SACHS L.
Angewandte Statistik
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 6, 1984
147. SANDOZ
Atlas of Haematology
Sandoz AG Basel, 1973
148. SCHEEL J.v.
Nierentransplantation im nahverwandten xenogenen Speziessystem Fuchs-Hund
Beeinflussung der Abstoßungsreaktion durch Antimakrophagenserum und Antilymphozytenglobulin
Dissertation München 1975

149. SCHÖDEL F., KROMBACH F., HAMMER, C., BRENDDEL W.
Peripheral blood and intrarenal phagocytic
chemiluminescence during acute kidney graft
rejection
Inflammation, Vol. 10, No.3:271, 1986
150. SCHÖDEL. F.
Phagozytose - assoziierte Chemilumineszenz bei
unbehandelter Nierentransplantatabstoßung
Dissertation München 1985
151. SCHRAM E.
Fundamental aspects of luminescent systems used
in clinical chemistry
XI International Congress of Clinical chemistry
Hrsg: Kaiser E., Gable F., Müller M.M., Bayer M.
Walter de Gruyter u. Co, Berlin - New York 1982
152. SHEN S., WEIR M., DAGHER F., BENTLEY F., REVIE D.,
ORDONEZ et al.
Effect of cyclosporine on total lymphocyte and
T-cell count in renal-transplant recipients
N.Engl.J.Med. Vol.314, No.7:447, 1986
153. SHONS A.R., NAJARIAN J.S.
Modification of xenograft rejection by aspirin,
dextran and cinanserin:
The importance of platelets in hyperacute rejection
Transpl.Proc., Vol. VI, No. 4:435, 1974
154. SIMPSON K.M.; BUNCH D.L., AMEMIYA H., BOEHMIG H.J.,
WILSON C.B., DIXON F.J. et al.
Humoral antibodies and coagulation mechanisms in
the accelerated or hyperacute rejection of renal
homografts in sensitized canine recipients
Surg., Vol. 68, No.1:77, 1970
155. SLAPAK M., GREENBAUM, W., BARDAWIL W., SARAIVIS C.,
JAISON J., MC DERMATT W.V.Jr.
Effect of heparin, arvin, liver perfusion and hetero-
logerus antiplatelet serum on rejection of pig kidney
by dog
Transpl.Proc, Vol. III, No. 1:558, 1971
156. STARZL T.E., MARCHIORO T.L., PETERS G.N.,
KIRKPATRICK C.H., WILSON, W.E.C., PORTER, K.A. et al.
Renal heterotransplantation from baboon to man:
Experience with 6 cases
Transpl. Vol. 2, No.6:752, 1964

157. STARZL T.E., IWATSUKI S., KLINTMALM G., SCHRÖTER G.P.J.,
KOEPEL L.J., IWAKI Y. et al.
The use of cyclosporin A and prednisone in cadaver
kidney transplantation
Surgery, Gynecology and Obstetrics, Vol.151:17, 1980
158. STEVENS P., HONG D.
The role of myeloperoxidase and superoxide anion in
the luminol and lucigenin-dependent chemiluminescence
of human neutrophils
Microchem. J. 30:00, 1984
159. STITES D.P., STABO J.D., FUDENBERG, H.H., WELLS, J.V.
Basic and clinical immunology
Lange Medical Publications, Los Altos, Cal., 5, 1984
160. STROM T.B., KUPIEC-WEGLINSKI J.W.
HEIDECHE C.D., TILNEY N.L.
The cellular and molecular basis of allograft rejection:
fact and fancy
Transpl. Proc.Vol.XVII :801, 1985
161. SUGIMOTO K., SHELBY J., CORRY R.J.
The effect of cyclosporine on cardiac
xenograft survival
Transpl. Vol. 39, No.2 :218, 1985
162. TOMITA K., HARASAKI, H., TAKATANI S., JACOBS G.B.,
KIRALY R.J., NOSE Y.
Total artificial hearts:
Physiological and technical limitations
Heart Transpl., Vol. 1, No. 2:163, 1982
163. TONO-OKA T., MATSUMOTO T., UENO N., YASHIKI N.,
MATSUMOTO S.
Chemiluminescence of whole blood
II. Application to clinical examination of
phagocytic functions of whole blood from various
types of disease
Clin. Immunol. a. Immunopathol. Vol.29:333, 1983
164. ULLMANN E.
Experimentelle Nierentransplantation.
Vorläufige Mitteilung
Wiener Klin.Wochenschrift, vol.15:281, 1902
165. UNGER E.
Nierentransplantation (II. Mitteilung)
Berliner klinische Wochenschrift :537, März 1910
166. VEATCH R.M.
The ethics of xenografts
Transpl.Proc.Vol.XVIII, No.3, Suppl.2 :93, 1986

167. VITETTA E.S., BIANCO C., NUSSENZWEIG V., UHR J.W.
Cell surface imunoglobulin
IV. Distribution among thymocytes, bone marrow
cells and their derived populations
J.exp. Med., Vol. 136:81, 1972
168. WAGNER, H., HARDT, C., HEEG K.
Wirkungsmechanismus des Ciclosporin A
Internist, 26:530, 1985
169. WAGNER H.
Cyclosporin A: Mechanisms of Action
Transpl. Proc.Vol. XI, No. 1:523, 1983
170. WALDNER H.
Experimentelle Untersuchungen zur Bedueutung der
Lymphozytenantigene bei der xenogenen Organtrans-
plantation im nahverwandten Speziessystem der Caniden
Dissertation 1979
171. WHITE D.J.G.
Cyclosporin A
Elsevier Biomedical Press, Amsterdam-New-York-
Oxford, 1982
172. WHITE D.J.G., CALNE, R.Y.
Cyclosporin A in heart allografting:
Its immunosuppressive and tolerance-inducing
properties
Heart transplantation, Vol.1, No.2:102, 1982
173. WIENER A.S., MOOR-JANKOWSKI J.
Blood groups in anthropoid apes and baboons
Science, Vol. 142:67, 1963
174. WONIGKEIT K.
Transplantationsimmunologie
In: Pichlmayr R., Transplantationschirurgie
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1981

WORTE DES DANKES

Herrn Professor Dr.med.Dr.med.h.c. Walter Brendel danke ich für die Aufnahme im Institut, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Anregung im Verlauf der ganzen Arbeit.

Herrn Professor Dr.med.Dr.med.vet. Claus Hammer gilt mein besonderer Dank für die Einführung in die immunologischen Grundlagen der Transplantation und die Betreuung der Arbeit. Seine Unterstützung hat die Arbeit entscheidend geprägt.

Herrn Professor Dr.med.M. Gokel danke ich für die Untersuchung und Beurteilung der histologischen Präparate.

Herrn Dr.med.vet. F. Krombach gilt mein Dank für die Unterstützung bei den Tierversuchen und den Laborarbeiten sowie für die Anregung und Kritik im Verlauf der gesamten Arbeit.

Für die Bestimmung der CSA-Spiegel danke ich Herrn Dr.med. Mraz vom Institut für klinische Chemie der Universität München.

Mein besonderer Dank für die technische Unterstützung und ständige Hilfsbereitschaft gilt Herrn Dr. med. F. Gebhard, Herrn Dr. med. C. Lersch, Frau G. Höbel und Frau P. Lenz und allen anderen Damen im Labor.

Herrn O. Frisch sei stellvertretend für alle Tierpfleger gedankt, ohne die die Versuche nicht möglich gewesen wären.

Für die geduldige Hilfe bei der Fertigstellung des Manuskriptes möchte ich Frau Rieder besonders danken.

LEBENS LAUF

- 28.06.1959 geboren in München als zweiter Sohn des Unternehmers Gotthold Böhm und seiner Frau Hanna Böhm, geb. Jany
- 1965 - 1969 Grundschule an der Flurstraße, München
- 1969 - 1978 Maria-Theresia Gymnasium, München
- 1979 - 1986 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- 1982 - 1986 Doktorarbeit am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München
- 1983, Sommer Stipendium der "South Africa Foundation":
3-monatiger Famulaturaufenthalt,
Nkonjeni-Hospital, Kwa-Zulu, Südafrika
- 1985 - 1986 Praktisches Jahr:
1. Ausbildung in Innerer Medizin, I. Med.
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität
München, Klinikum Großhadern
Dir.: Prof.Dr. Gerhard Riecker
2. Ausbildung in Chirurgie
Allgemeinchirurgie, Baragwanath-
Hospital, Soweto, Johannesburg
University of Witwatersrand
Dir.: Professor Dr. H.H. Lawson
Herz- und Thoraxchirurgie, Groote-
Schoor Hospital, University of Cape Town
Dir.:Professor Dr. Bruno Reichart
Zusätzliche Forschungstätigkeit am Herz-
forschungszentrum, Kapstadt
Dir.: Professor Dr. Lionel Opie
3. Ausbildung in Anästhesie und Intensiv-
medizin, Institut für Anästhesiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München,
Klinikum Großhadern
Dir.: Professor Dr. Klaus Peter
- 1986, Mai Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
und Approbation

